

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Herr Prof. Dr. med. H-J. Möller

**Einfluss des RGS4-Gens auf Schizophrenie und schizophrenierelevante
neuropsychologische Endophänotypen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Heike Konnerth

aus
Blaj

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr.med. Elke Holinski-Feder
Priv. Doz. Dr. med. Angela Abicht

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 01.12.2010

meinem Mann und meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	7
2 Einleitung	9
2.1 Die Schizophrenie	9
2.1.1 Symptomatik und Klassifikation der Schizophrenie	9
2.1.2 Verlauf und Prognose der Schizophrenie	13
2.1.3 Epidemiologie der Schizophrenie	13
2.1.4 Ätiopathogenese der Schizophrenie	15
2.1.4.1 Umweltfaktoren	16
2.1.4.2 Genetische Faktoren	17
2.1.4.3 Neuroanatomische und neurobiochemische Veränderungen bei schizophrenen Patienten	27
2.2 Endophänotypen	32
2.2.1 Das Konzept der Endophänotypen	32
2.2.2 Neuropsychologische Endophänotypen	37
2.2.3 Verbales deklaratives Gedächtnis	40
2.2.3.1 Definition des Gedächtnisses	40
2.2.3.2 Verbales deklaratives Gedächtnis bei schizophrenen Patienten	41
2.3 Regulator of G-Protein Signaling 4 (RGS4)	46
2.3.1 G-Protein gekoppelte Rezeptoren und ihre Signaltransduktion	46
2.3.2 Die Familie der RGS-Proteine	48
2.3.3 RGS4	50
2.3.4 RGS4 und Schizophrenie	53
2.3.5 RGS4 und klinische Phänotypen/Endophänotypen	77
3 Fragestellung	87
4 Material und Methoden	88
4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung	88
4.2 Studienteilnehmer	88
4.2.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	88
4.2.1.1 Kontrollprobanden	88
4.2.1.2 Patienten	90
4.2.2 Endophänotypen-Studie	93
4.3 Neuropsychologische Testverfahren	93
4.3.1 Der Wechsler Gedächtnis Test – Revidierte Fassung (WMS-R)	95
4.3.2 Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT)	99
4.4 Laborverfahren	100

4.4.1 DNA-Extraktion	100
4.4.2 Bestimmung der DNA-Konzentration	102
4.4.3 Genotypisierung	104
4.5 Statistische Auswertung	109
5 Ergebnisse	111
5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	111
5.1.1 Analyse des Markers rs951436 des RGS4-Gens	111
5.1.2 Analyse des Markers rs951439 des RGS4-Gens	112
5.1.3 Analyse des Markers rs2661319 des RGS4-Gens	113
5.1.4 Analyse des Markers rs2842030 des RGS4-Gens	114
5.1.5 Analyse des Markers rs10759 des RGS4-Gens	115
5.1.6 Analyse des Markers rs2063142 des RGS4-Gens	116
5.1.7 Analyse der Haplotypen des RGS4-Gens	117
5.2 Endophänotypen-Studie	118
5.2.1 Zusammenhang zwischen den kognitiven Domänen und den Polymorphismen des RGS4-Gens	119
5.2.1.1 Assoziation zwischen den einzelnen kognitiven Domänen und den Allelen	120
5.2.1.2 Assoziation zwischen den einzelnen kognitiven Domänen und den Genotypen	121
5.2.2 Zusammenhang zwischen verbalem Gedächtnis und Polymorphismen des RGS4-Gens	122
5.2.2.1 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs951436	123
5.2.2.2 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs951439	124
5.2.2.3 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs2661319	124
5.2.2.4 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs2842030	125
5.2.2.5 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs10759	126
5.2.2.6 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs2063142	127
5.2.3 Zusammenhang zwischen verbalem Gedächtnis und den Haplotypen des RGS4-Gens	128
5.3 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse	129
6. Diskussion	135
6.1 Darstellung und inhaltliche Interpretation der Ergebnisse	135
6.2 Diskussion der Methoden	150
6.3 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen	168
7 Abkürzungsverzeichnis	171
8 Literaturverzeichnis	174
9. Danksagung	220
10. Lebenslauf	221

1 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychiatrische Störung, von der weltweit etwa 1% der Bevölkerung betroffen ist. Die multifaktorielle Ätiopathogenese der Erkrankung ist noch weitgehend ungeklärt, wobei eine genetisch bedingte Vulnerabilität im Mittelpunkt steht. Dabei wird von einem polygenen Erbgang ausgegangen, wobei die risikomodulierenden Genvarianten bei verschiedenen Personen möglicherweise in unterschiedlicher Ausprägung vorliegen und für die Erkrankung prädisponieren. Bei der Suche nach kausalen chromosomalen Loci wurden bislang mehrere Gene mit jeweils nur geringen Beiträgen zu Entstehung und Ausprägung der Schizophrenie identifiziert. Dennoch sind die Anzahl der prädisponierenden Genloci, das von jedem Genort übertragene anteilige Risiko sowie epistatische Effekte derzeit unbekannt.

Ein Grund für die inkonsistente Ergebnislage wird in der ätiologischen Heterogenität der klinisch-psychiatrischen Diagnose Schizophrenie gesehen. Das Konzept der Endophänotypen bzw. intermediärer Phänotypen bietet eine Möglichkeit ätiologisch homogenere Subgruppen zu bilden. Endophänotypen sind zeitstabile, quantitativ messbare neurobiologische Korrelate. Es wird angenommen, dass ihre Ätiologie homogener und ihre genetische Determination weniger komplex ist als diejenige klinischer Krankheitsphänotypen.

RGS4 ist ein Kandidatengen für Schizophrenie, das auf Chromosom 1 lokalisiert ist, in einer Region, die mit Schizophrenie gekoppelt zu sein scheint. Die Relation von RGS4 zur Pathogenese der Schizophrenie erscheint plausibel, da RGS4-Proteine die zeitliche Koordination und die Dauer der Signaltransduktion spezifischer Neurotransmittersysteme regulieren, die in der Pathophysiologie und der Behandlung der Schizophrenie eine Rolle spielen. Die Expression von RGS4 ist im Neokortex hoch und bei schizophrenen Patienten signifikant reduziert. In mehreren Assoziationsstudien (familienbasierte- und Fall-Kontroll-Designs) wurde ein signifikanter Zusammenhang unterschiedlicher RGS4-Polymorphismen und der Schizophrenie berichtet, wobei die Ergebnislage in Bezug auf die krankheitsassoziierten Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), Allele und Haplotypen inkonsistent ist.

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde der Zusammenhang von sechs Basenaustauschpolymorphismen des RGS4-Gens und der Schizophrenie an 504 Schizophreniepatienten sowie 1315 deutschstämmigen Kontrollprobanden untersucht. In einer Subgruppe von 102 Patienten und 248 gesunden Kontrollprobanden wurde auch der Zusammenhang der sechs RGS4-Polymorphismen und neuropsychologischen Endophänotypen untersucht. Hierzu wurden die Patienten und Kontrollprobanden mit einer umfassenden neuropsychologischen Testbatterie untersucht. Die sechs SNPs (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759 und rs2063142) wurden mittels iPLEX genotypisiert und die Massen anschließend im MALDI-TOF Massenspektrometer analysiert.

Signifikante Assoziationen der untersuchten RGS4-Polymorphismen konnten in dieser Arbeit sowohl mit dem Phänotypen Schizophrenie als auch mit dem neuropsychologischen Endophänotypen verbales Gedächtnis gefunden werden. Drei der untersuchten RGS4-Polymorphismen (rs951436, rs951439, rs2063142) waren mit Schizophrenie assoziiert, ein weiterer (rs10759) zeigte eine Tendenz zur Assoziation. In der Endophänotypen-Studie wurde eine signifikante Assoziation zwischen dem Marker rs2661319 und dem Faktor verbales Gedächtnis gefunden. In einem nächsten Schritt wurde untersucht, ob die Untertests bzw. Indizes, die den Faktor verbales Gedächtnis bilden, ebenfalls mit den analysierten RGS4-Polymorphismen assoziiert sind. Vier RGS4-Marker (rs951436, rs2661319, rs2842030, rs10759) zeigten eine Assoziation mit unterschiedlichen Indizes des Faktors verbales Gedächtnis, ein Marker (rs2063142) war tendenziell mit einem Index assoziiert. Die durchgeführte Haplotypenanalyse konnte diese Befunde bestätigen. Interessanterweise war das jeweilige C-Allel der Marker rs951436 und rs951439 sowohl mit Schizophrenie als auch mit einer schlechteren Leistung in einem Index assoziiert.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung deuten auf einen Zusammenhang des RGS4-Gens sowohl mit Schizophrenie als auch mit dem neuropsychologischen Endophänotypen verbales Gedächtnis hin. Aufgrund der insgesamt jedoch inkonsistenten Ergebnislage im Hinblick auf krankheitsassoziierte SNPs, Allele und Haplotypen des RGS4-Gens sind weitere Studien nötig, um die mit Schizophrenie assoziierten RGS4-Polymorphismen zu identifizieren. Erst wenn die Identifikation der Genvarianten gelungen ist, die mit dem Risiko an Schizophrenie zu erkranken assoziiert sind, können in einem nächsten Schritt die bislang unbekannten molekularen Signalwege untersucht werden, durch deren Kenntnis eine kausale Therapie der Erkrankung ermöglicht würde.

2 Einleitung

2.1 Die Schizophrenie

Die Schizophrenie gehört zur Hauptgruppe der endogenen Psychosen und repräsentiert eine der schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen. Klinisch betrachtet ist sie eine heterogene Störung, die symptomatisch sehr vielfältig ist.

2.1.1 Symptomatik und Klassifikation der Schizophrenie

Die schizophrenen Erkrankungen bieten ein heterogenes Erscheinungsbild, bei dem fast alle psychischen Funktionen mitbetroffen sein können. Bei voller Symptomausprägung stehen Störungen des inhaltlichen und formalen Denkens, der Ich-Funktionen, der Wahrnehmung, der Intentionalität und des Antriebs, der Affektivität und der Psychomotorik sowie kognitive Störungen im Vordergrund.

Inhaltliche Denkstörungen im Sinne eines Wahnerlebens treten bei etwa 90% der an Schizophrenie Erkrankten im Krankheitsverlauf auf (Cutting 2003). Wahn imponiert als Fehlbeurteilung der Realität, die mit erfahrungsunabhängiger Evidenz auftritt und an der mit subjektiver Gewissheit festgehalten wird, auch wenn sie im Widerspruch zur Wirklichkeit steht. Häufige Wahninhalte sind Beziehungs-, Verfolgungs- und Beeinträchtigungsgedanken, hypochondrische Befürchtungen oder Größenideen. Formale Denkstörungen können sich als Gedankenabreißen, Danebenreden, Neologismen oder Denkzerfahrenheit äußern. Eine Störung der Ich-Funktion liegt dann vor, wenn die Grenzen zwischen dem Ich und der Umwelt als durchlässig erscheinen (Möller & Deister 2000). Bei schizophrenen Patienten kommen Depersonalisation (Gedanken, Gefühle oder Teile des Körpers werden als fremd erlebt) und Derealisation (die Umwelt wird als fremdartig und unwirklich erlebt) häufig vor. Diese Störungen können sich auch als Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung oder Willensbeeinflussung präsentieren. Wahrnehmungsstörungen (Halluzinationen) treten am häufigsten als akustische Halluzinationen in Form von Stimmenhören auf. Dazu zählen Gedankenlautwerden, dialogisierende und kommentierende sowie imperative Stimmen. Andere akustische, optische, taktile, olfaktorische und

gustatorische Halluzinationen sind seltener. Störungen der Intentionalität und des Antriebs zeigen sich häufig in Form eines sozialen Rückzugs, basierend auf Antriebsarmut sowie Mangel an Energie und Initiative. Psychomotorische Störungen im Sinne katatoner Symptome können sich hyperkinetisch als Manierismen, motorische Unruhe oder Erregung, Bewegungs- und Sprachstereotypien und Echopraxie äußern. Hypokinetische Symptome sind Stupor, Negativismus, Katalepsie, Rigidität und wächserne Biegsamkeit (*flexibilitas cerea*). Vielfältige Störungen der Affektivität werden bei schizophrenen Patienten beobachtet, unter anderem Ratlosigkeit, erhöhte Ängstlichkeit, innere Anspannung, dysphorische, gereizte und/oder depressive Stimmung, Störung der Vitalgefühle aber auch Affektarmut, Affektlabilität und Affektstarre sowie parathymer und ambivalenter Affekt. Die kognitiven Störungen beziehen sich auf Beeinträchtigungen der Gedächtnisleistungen, der Konzentrationsfähigkeit, der Aufmerksamkeit und des Denkens.

Über die pathognomonische Wertigkeit dieser Symptome existieren unterschiedliche Auffassungen. Während Eugen Bleuler zwischen dauerhaft vorhandenen Grundsymptomen (Assoziationsstörungen, Affektstörungen, Autismus und Ambivalenz) und akzessorischen, zeitweilig auftretenden Symptomen (Wahn, Halluzinationen, katatone Symptome sowie Störungen der Schrift und der Sprache) unterschied (Bleuler 1911), nahm Kurt Schneider eine Aufteilung nach pathognomonischen Erstrangsymptomen (Wahnwahrnehmungen, Gedankenlautwerden, interpretierende Stimmen, Gedankenentzug, etc.) und Zweitrangsymptomen (sonstige Sinnestäuschungen, Wahneinfälle, Affektveränderungen, Ratlosigkeit, etc.) vor (Schneider 1957).

Seit den siebziger Jahren wird die Symptomatik schizophrener Psychosen auch in positive und negative Symptome differenziert. Zur typologischen und dimensional Erfassung der Symptome entwickelten Kay und Kollegen (Kay et al. 1987) die Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). Die 30 Symptome sind drei Skalen zugeordnet: (1) der Positivskala, zu der Wahnvorstellungen, formale Denkstörungen, Halluzinationen, Erregung, Größenwahn, Feindseligkeit und Misstrauen/Verfolgungswahn gehören; (2) der Negativskala, die Affektverflachung, Mangel an affektivem Rapport sowie an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache, Schwierigkeiten beim abstrakten Denken, stereotype Gedanken, soziale Passivität und emotionaler Rückzug umfasst und der (3) psychopathologischen Globalskala, welche Angst, Schuldgefühle, Gespanntheit, Manieriertheit, Depression, verlangsamte Motorik, Unkooperativität, ungewöhnliche Denkinhalte, Desorientiertheit,

Aufmerksamkeitsschwäche, mangelnde Urteils- und Einsichtsfähigkeit, Störung der Willensbildung, mangelnde Impulskontrolle, Selbstbezogenheit, aktives soziales Vermeidungsverhalten und leibliche Befindlichkeitsstörung enthält (Kay et al. 1987). Unter ätiopathogenetischen und prognostischen Gesichtspunkten wurde von Crow (1985) eine Unterteilung der Schizophrenie in Typ 1 und Typ 2 vorgenommen. Typ 1 ist durch überwiegende Positivsymptomatik, gute Neuroleptikaresponse, fehlende intellektuelle Beeinträchtigung und einen reversiblen Verlauf gekennzeichnet, während Typ 2 hauptsächlich mit Negativsymptomatik, hirnstrukturellen Veränderungen, eventuell vorhandener intellektueller Beeinträchtigung und schlechter Prognose assoziiert scheint (Crow 1985).

In den letzten Jahrzehnten erfolgte mit Hilfe der zwei anerkannten Klassifikationssysteme ICD (International Classification of Diseases, der Weltgesundheitsorganisation WHO) und DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, der American Psychiatric Association APA) eine Vereinheitlichung der Klassifikation schizophrener Störungen. Beide Klassifikationssysteme fordern das Vorhandensein spezifischer Symptome über eine bestimmte Mindestdauer (Tabelle 1). In der ICD 10 erfolgt die nosologische Einteilung nach den klinischen Syndromen einer paranoiden, hebephrenen, katatonen und undifferenzierten Schizophrenie sowie der postschizophrenen Depression, des schizophrenen Residuums und der Schizophrenia simplex. Das DSM-IV unterscheidet die fünf Haupttypen: paranoid, desorganisiert, kataton, undifferenziert und residual (Tabelle 1).

Tabelle 1: Diagnostische Kriterien der Schizophrenie und Klassifikation der Subtypen nach DSM-IV und ICD 10

DSM-IV	ICD 10
<i>Charakteristische Symptome</i>	
Wahnvorstellungen (Beziehungswahn, Verfolgungswahn, Größenwahn, körperbezogener Wahn, etc.)	Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, Wahnwahrnehmung
Halluzinationen jeder Sinnesmodalität	Halluzinationen jeder Sinnesmodalität
Zerfahrenheit oder Danebenreden	Desorganisierte Sprechweise (Assoziationslockerung und Zerfahrenheit)
Grob desorganisiertes oder katatonisches Verhalten	Katatone Symptome
Negative Symptome (Antriebshemmung, Alogie, Affektverflachung)	Negativsymptome (Apathie, Sprachverarmung, Affektverarmung, -verflachung oder inadäquate Affekte)

DSM-IV	ICD 10
<i>Soziale/berufliche Leistungseinbußen</i>	
Für eine bedeutsame Zeitspanne seit dem Beginn der Störung sind einer oder mehrere Funktionsbereiche wie Arbeit oder zwischenmenschliche Beziehungen deutlich unter dem früheren Funktionsniveau.	
<i>Dauer</i>	
Durchgehendes Bestehen der Störungssymptome für mindestens sechs Monate. Dieser Zeitraum muss mindestens einen Monat einschließen, in dem Symptome einer akuten Episode erfüllt sind. Während Prodromal- und Residualphasen können auch nur negative Symptome oder abgeschwächte Symptome einer akuten Episode auftreten.	Die Symptome sollten mindestens vier Wochen die meiste Zeit bestehen.
<i>Ausschluss von Schizoaffectiver und Affectiver Störung</i>	
Eine Schizoaffective Störung und eine Affective Störung mit psychotischen Merkmalen wurden ausgeschlossen.	
<i>Ausschluss von Substanzeinfluss/medizinischem Krankheitsfaktor</i>	
Das Störungsbild geht nicht auf die direkte körperliche Wirkung einer Substanz (z.B. Drogen, Medikamente) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors zurück.	Die Symptome können durch keine organische Störung erklärt werden.
<i>Klassifikation der Subtypen</i>	
Paranoider Typ (295.30) Desorganisierter Typ (295.10) Katatoner Typ (295.20) Undifferenzierter Typ (295.90) Residualer Typ (295.60)	Paranoide Schizophrenie (F20.0) Hebephrener Typ (F20.1) Katatone Schizophrenie (F20.2) Undifferenzierte Schizophrenie (F20.3) Postschizophrene Depression (F20.4) Schizophrenes Residuum (F20.5) Schizophrenia simplex (F20.6)

2.1.2 Verlauf und Prognose der Schizophrenie

Der Verlauf der Schizophrenie zeigt eine hohe inter- und intraindividuelle Variabilität. Das Vollbild der Erkrankung kann akut auftreten oder sich schleichend entwickeln. Den charakteristischen Symptomen können über einen längeren Zeitraum unspezifische Störungen im Bereich von Kognition, Affekt und sozialem Verhalten - so genannte Prodromalerscheinungen – vorausgehen (Häfner & an der Heiden 2003). Die akute Manifestation kann Wochen bis Monate dauern. Die Krankheit kann in Schüben mit Ausbildung einer Residualsymptomatik oder in Phasen mit vollständiger Remission verlaufen. Bei einem geringen Prozentsatz der Erkrankten chronifiziert eine produktive Symptomatik und bleibt zeitlebens bestehen. Bei über 50% der Patienten nimmt die Krankheit einen rezidivierenden Verlauf mit Residualsymptomatik und massiven Störungen der sozialen Integration (Möller 2005). Nach dem Abklingen akuter Symptomatik können postremissive Zustände (postpsychotische Depression oder postpsychotische Erschöpfungszustände) auftreten, die im Gegensatz zum chronischen Residuum nach einigen Wochen oder Monaten jedoch wieder abklingen können (Möller 2005). Längerfristige Verlaufsuntersuchungen zeigen, dass 40% der Erkrankten nach durchschnittlich 5.6 Jahren als deutlich gebessert einzuschätzen sind (Hegarty et al. 1994).

Obwohl inzwischen eine Reihe prognostisch relevanter Merkmale (z.B.: akuter Krankheitsbeginn mit auslösenden Faktoren, gutes prämorbid funktionelles Niveau, gutes Ansprechen auf frühere Behandlungen) für die Langzeitprognose beschrieben wurden, ist eine verlässliche Einschätzung der Prognose im Einzelfall bei Krankheitsbeginn nicht möglich (Emsley et al. 2008).

2.1.3 Epidemiologie der Schizophrenie

Die Schätzungen für die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie schwanken zwischen 0.5 und 1.6%. Die Inzidenzrate (Anzahl der Neuerkrankungen) wird mit 0.16 bis 0.42 pro 1000 Einwohner angegeben, die Punktprävalenz (Gesamtzahl der Erkrankten zu einem bestimmten Zeitpunkt) mit 1.4 bis 4.6 pro 1000 Einwohner (Jablensky 2000, Saha et al. 2005). Die Prävalenzzahlen sind in unterschiedlichen Ländern der Welt mit variierendem soziokulturellem Hintergrund etwa gleich (Tsuang et al. 1995, Saha et al. 2006). Das

Ersterkrankungsalter liegt in der Regel zwischen dem 15. und 35. Lebensjahr. Männer erkranken jedoch etwa drei bis vier Jahre früher als Frauen. Als Ursache hierfür werden vor allem neurohumorale Faktoren wie beispielsweise eine Schutzwirkung des Östrogens diskutiert (Häfner 2003).

Entgegen früherer Annahmen wurde in einer Metaanalyse von Saha et al. (2006) ein Zusammenhang zwischen dem Risiko an Schizophrenie zu erkranken (Inzidenz) und Migration (Cantor-Graae & Selten 2005), männlichem Geschlecht und dem Maß an Urbanisierung (urbanicity) gefunden. In der Gruppe der Migranten werden nicht nur erhöhte Inzidenzraten sondern auch höhere Prävalenzraten beobachtet (Tandon et al. 2008)

Lange Zeit wurde angenommen, dass das Lebenszeitrisko an Schizophrenie zu erkranken bei Männern und Frauen gleich hoch sei (z.B. Wyatt et al. 1988). Neuere Untersuchungen sowie zwei Metaanalysen deuten jedoch darauf hin, dass Männer ein höheres Lebenszeitrisko an Schizophrenie zu erkranken haben als Frauen (Aleman et al. 2003, McGrath et al. 2004). Bezüglich der Prävalenzrate werden diese geschlechtsspezifischen Unterschiede nicht beobachtet. Eine von mehreren möglichen Erklärungen für diesen auf den ersten Blick widersprüchlichen Befund ist, dass Männer ein höheres mit der Krankheit zusammenhängendes Mortalitätsrisiko aufweisen als Frauen (Tandon et al. 2008).

Der Befund, dass schizophrene Psychosen bei Personen die in Städten leben gehäuft vorkommen, wurde mit dem „sozialen Drift“ der Schizophreniepatienten erklärt, wonach erkrankte Personen aufgrund niedrigerer Mieten und relativer Anonymität häufiger in Innenstädte ziehen (Dohrenwend et al. 1992). Obwohl diese Hypothese Bestätigung erfahren hat, weisen neuere Untersuchungen auf einen Zusammenhang zwischen der Geburt und dem Aufwachsen (bis zum 15. Lebensjahr) in einer Stadt und einem gesteigerten Risiko an Schizophrenie zu erkranken hin (Mortensen et al. 1999, Kirkbride et al. 2006), wobei die risikomodulierenden Faktoren unbekannt bleiben (Tandon et al. 2008). Obwohl die Inzidenzrate bei Personen die im städtischen Umfeld geboren und aufgewachsen sind erhöht ist, ist ein solcher Zusammenhang bezüglich der Prävalenzrate nicht feststellbar (Tandon et al. 2008).

2.1.4 Ätiopathogenese der Schizophrenie

Trotz intensiver Forschung ist die genaue Ätiologie der Schizophrenie noch immer ungeklärt. Derzeit wird von einer multifaktoriellen Ätiopathogenese der Schizophrenie ausgegangen, wobei genetische, hirnanatomische und psychosoziale Faktoren bei der prämorbid Entwicklung eine Rolle spielen (Abbildung 1; Möller 2005). Die unterschiedlichen Teilursachen können im Einzelfall von unterschiedlicher Bedeutung sein, wobei sich die einzelnen Faktoren (genetische, epigenetische, Umweltfaktoren, etc.) wechselseitig beeinflussen, wodurch z. B. hirnstrukturelle, neurophysiologische und/oder biochemische Besonderheiten entstehen können. Daraus resultiert im Sinne einer erhöhten Vulnerabilität eine Prädisposition zur Manifestation der Erkrankung. Ungünstige psychosoziale Stressoren (z. B. kritische Lebensereignisse) begünstigen bei vulnerablen Personen die Erstmanifestation bzw. eine erneute Exazerbation der Erkrankung (Möller & Deister 2000). Im Sinne des Vulnerabilitäts-Stress-Modells kann es dann zum Ausbruch der Erkrankung kommen, wenn eine multifaktorielle Schwelle überschritten wird (Sawa & Snyder 2002).

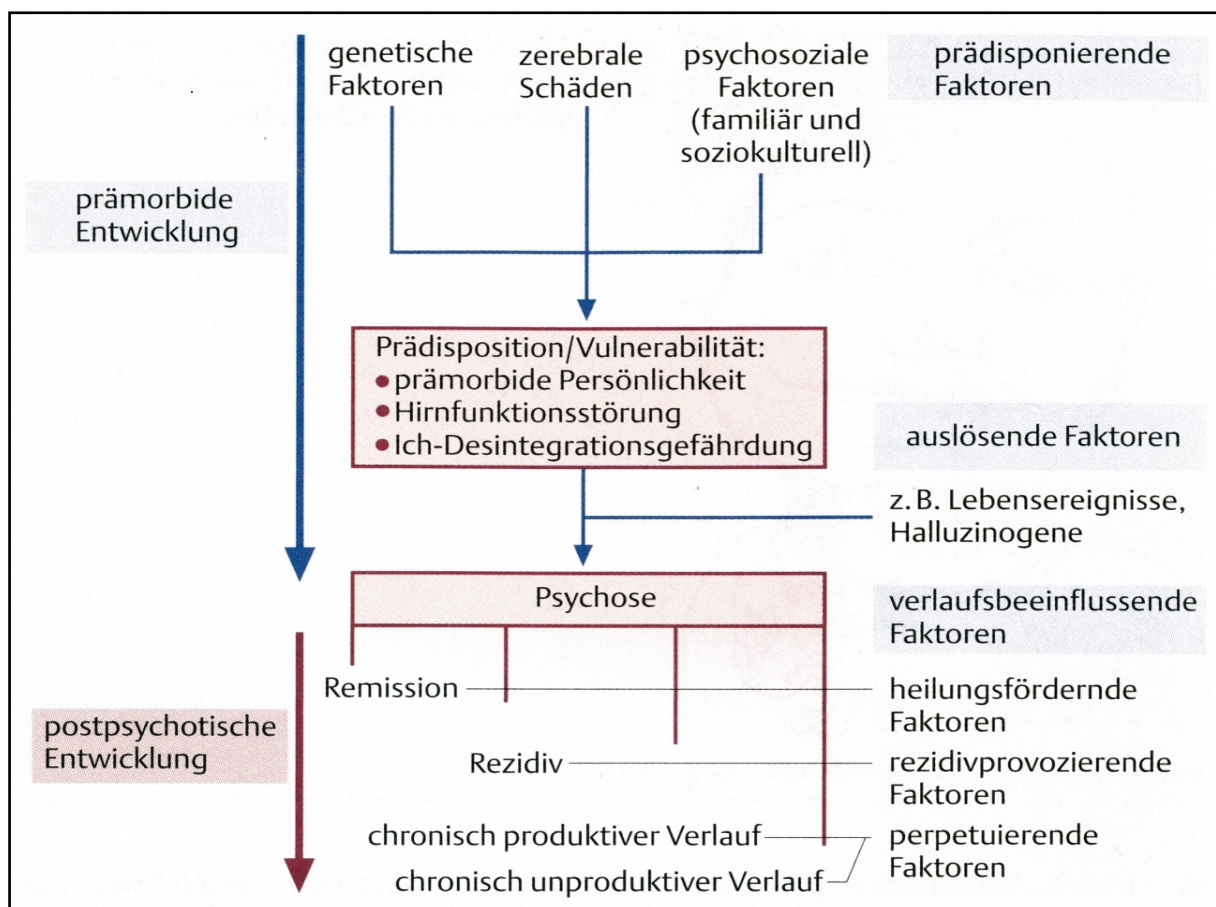


Abbildung 1: Modell der Ätiopathogenese der Schizophrenie (Möller 2005, Seite 136)

2.1.4.1 Umweltfaktoren

Umweltfaktoren können einen kausalen Zusammenhang zur Schizophrenieentstehung aufweisen, und/oder einen auslösenden Charakter haben. In mehreren populationsbasierten Katamnesen konnten Umweltfaktoren wie beispielsweise Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen (Hultman et al. 1997, Cannon et al. 2002, Byrne et al. 2007), hohes väterliches Alter (Malaspina et al. 2001, Byrne et al. 2003, Zammit et al. 2003, Tsuchiya et al. 2005), der Geburtsort (Krabbendam & van Os 2005) oder emotionaler Stress während der Schwangerschaft (Clarke et al. 2006) als Risikofaktoren für den Ausbruch einer Schizophrenie identifiziert werden.

Die Virushypothese der Schizophrenie postuliert eine mögliche Assoziation zwischen einer maternalen Infektion, speziell einer Virusinfektion, und der Prädisposition für die Manifestation der Erkrankung (Tsuang & Faraone 1995, Brown 2006). Es gibt Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen einer Influenza-Infektion der Mutter während der Schwangerschaft, vor allem während des zweiten Trimenons, und einer Erhöhung des Erkrankungsrisikos (Mednick et al. 1988, Barr et al. 1990, Limosin et al. 2003). Aufgrund der neuronalen Migration und des starken Hirnwachstums in dieser Zeitspanne scheint das Gehirn in dieser Phase besonders vulnerabel für derartige Umwelttoxinen. Nicht alle durchgeführten Studien fanden jedoch einen Zusammenhang zwischen einer Influenza-Infektion der Schwangeren und Schizophrenie bei ihren Nachkommen, so dass die Ergebnislage insgesamt inkonsistent ist (Crow 1994, Battle et al. 1999, Ebert & Kotler 2005). Auch andere pränatale Infektionen werden als risikosteigernde Faktoren diskutiert, vor allem wenn sie im zweiten Trimenon auftreten. Hierzu gehören beispielsweise pränatale Infektionen mit Röteln-, Masern-, Polio-, Herpes simplex- und Varizella-Zoster-Viren, aber auch allgemeine respiratorische Infekte und solche mit *Toxoplasma gondii* (Torrey et al. 1988, Suvisaari et al. 1999, Brown et al. 2000, 2001, Brown & Susser 2002, Torrey et al. 2007, Niebuhr et al. 2008). Es wird vermutet, dass nicht der Virus selbst die Ursache für eine pränatale Gehirnschädigung ist, sondern die Immunreaktion der Mutter oder des Fötus (Pettersson 2002, Verdoux 2004, Edwards 2007).

Während der Pubertät gilt vor allen Drogenkonsum, hier insbesondere der Cannabisgebrauch, als Risikofaktor für die Manifestation einer Schizophrenie (Van Os et al. 2002, Moore et al. 2007, DeLisi 2008). Ob es sich hierbei um einen kausalen oder einen auslösenden Faktor

handelt, wird in der Literatur kontrovers diskutiert (Degenhardt & Hall 2006, Barnes et al. 2006).

Stressreiche Life-events sind ein oft untersuchter psychosozialer Auslösefaktor für Schizophrenie. Obwohl einige Ergebnisse darauf hindeuten, dass Life-events mit dem Ausbruch der Erkrankung assoziiert sein könnten, sind die genauen Mechanismen dieses komplexen Zusammenhangs derzeit nicht hinreichend bekannt (Horan et al. 2005, Chabungbam et al. 2007, Docherty et al. 2008).

Für die Rezidivprophylaxe scheint das emotionale Familienklima relevant zu sein. Einige Befunde deuten darauf hin, dass Patienten, die in einer so genannten „High-expressed-emotions“-Familie leben, eine erhöhte Rezidivneigung aufweisen (Cutting et al. 2006, Pharoah et al. 2006, Hooley 2007, Breitborde et al. 2007). Diese Familien zeichnen sich durch eine erhöhte kritische Emotionalität und/oder eine überprotektive Einstellung dem Erkrankten gegenüber aus (Möller 2005).

Die Rolle bei der Entstehung der Erkrankung ist für alle mit Schizophrenie assoziierten Umweltfaktoren bislang ebenso unbekannt, wie die genauen Effekte und Wirkmechanismen dieser Einflüsse. Unbekannt ist auch, ob die beschriebenen Umweltfaktoren selbst risikosteigernd wirken oder ob sie den Einfluss anderer - bislang möglicherweise nicht untersuchter - Faktoren vermitteln (Tandon et al. 2008). Hiervon unabhängig wird angenommen, dass jeder einzelne der bislang in der Literatur beschriebenen Umweltfaktoren für sich meistens relativ wenig zum Gesamterkrankungsrisiko beiträgt und erst in der Interaktion mit der genetischen Vulnerabilität relevant wird (Caspi & Moffitt 2006).

2.1.4.2 Genetische Faktoren

Basierend auf Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien ist eine starke genetische Komponente in der Ätiologie der Erkrankung gut gesichert (Gottesman & Shields 1982, Sullivan et al. 2003).

Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

Familienstudien ergaben, dass das Risiko an Schizophrenie zu erkranken für Angehörige schizophrener Patienten im Vergleich zur gesunden Bevölkerung erhöht ist. Es beträgt für Verwandte ersten Grades 5-15%, für Verwandte zweiten Grades 2-6% und für Verwandte dritten Grades 2% (Abbildung 2, Gottesman 1991,). Da die Ähnlichkeit zwischen den untersuchten Familienmitgliedern sowohl auf genetische Einflüsse als auch auf solche der gemeinsamen familiären Umgebung zurückgeführt werden kann, können Familienstudien keine Trennung von genetischen Einflüssen und Umweltfaktoren darstellen.

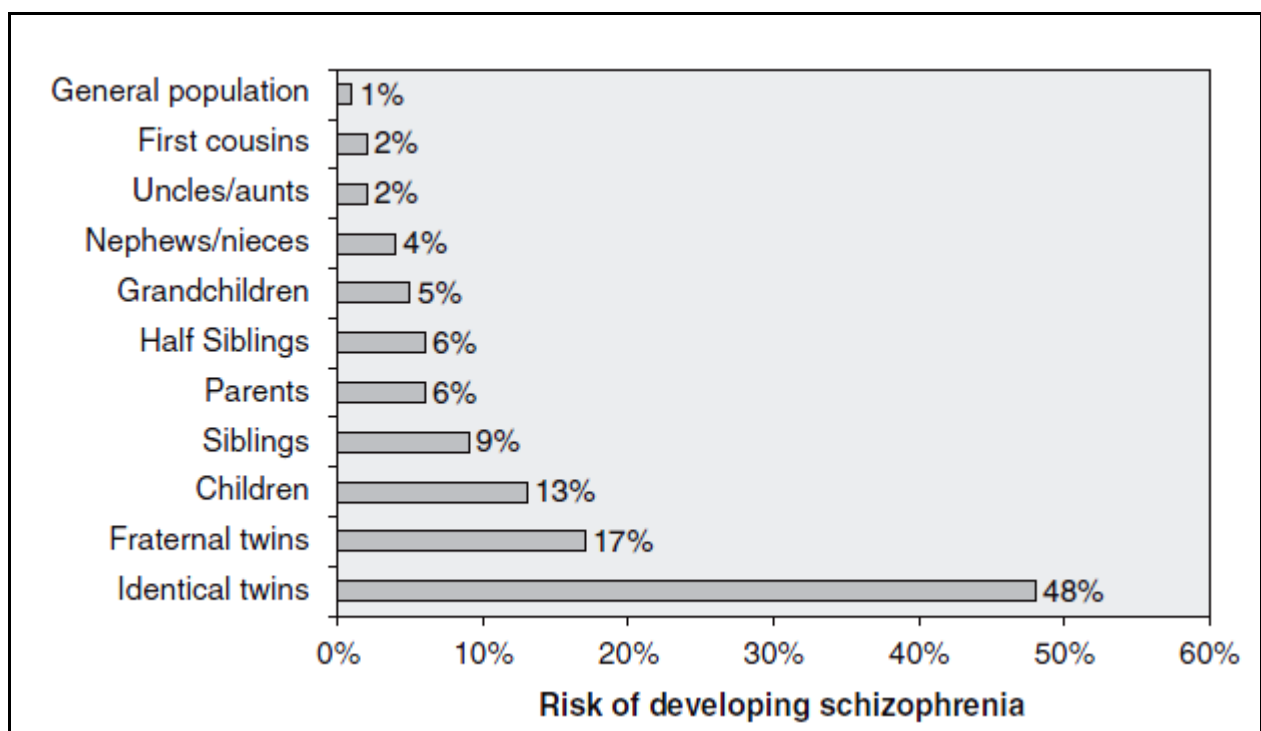


Abbildung 2: Risiko für Angehörige schizophrener Patienten selbst an Schizophrenie zu erkranken (Gottesman 1991)

Die Frage ob und zu welchen Anteilen Schizophrenie vererbt wird, kann mit Hilfe von Zwillings- und Adoptionsstudien eingeschätzt werden. Zwillingsstudien vergleichen die Konkordanz von monozygoten Zwillingen, bei denen eine fast vollständige genetische Identität vorliegt, mit der von dizygoten Zwillingen, die nur ca. 50% ihrer Gene teilen. Basierend auf einer Konkordanzrate von ca. 50% bei monozygoten und ca. 10-15% bei dizygoten Zwillingen wird die Heritabilität der Schizophrenie auf 70 bis 84% geschätzt (Cardno & Gottesman 2000, Kendler 2001, Wong et al. 2005). Dieser Befund wird als Indiz für die starke genetische Rolle bei der Ätiologie der Schizophrenie gewertet. Die

durchschnittlich 50%ige Konkordanz für Schizophrenie bei monozygoten Zwillingen zeigt aber auch, dass die genetische Grundlage nicht als alleinige Ursache angesehen werden kann (Owen et al. 2005). Sie wird vielmehr als Disposition verstanden, die nur zur Erkrankung führt, wenn andere Faktoren hinzukommen.

Die beste Möglichkeit genetische Einflüsse und umweltbedingte Faktoren zu trennen, stellen Adoptionsstudien dar. Viele Adoptionsstudien liefern Hinweise dafür, dass der familiären Häufung schizophrener Erkrankungen eine genetische Komponente zugrunde liegt (Tsuang & Faraone 1995, Ingraham & Kety 2000). Dafür spricht, dass durch die frühe Adoption von unbelasteten Kindern durch eine Familie mit einem schizophrenen Elternteil das Risiko der adoptierten Kinder, an Schizophrenie zu erkranken, nicht erhöht war. Dagegen behielten früh adoptierte Kinder schizophrener Eltern ihr gesteigertes Risiko selbst an Schizophrenie zu erkranken bei, obwohl die Adoptiveltern keine derartige Erkrankung aufwiesen (Kety 1988, Kety et al. 1994, Tienari et al. 2000)

Molekulargenetik der Schizophrenie

Das Vererbungsmuster der Schizophrenie ist komplex und folgt nicht den Mendelschen Regeln, welche nur bei monogenen Erkrankungen gelten. Erschwerend kommt hinzu, dass es sich bei der Schizophrenie nicht um eine Entität handelt - die Erkrankung ist sowohl phänotypisch als auch ätiologisch heterogen. Intrafamiliär wird ein qualitativ heterogener und quantitativ variierender Phänotyp übertragen. Keines der heute bekannten Gene mit vermuteter pathophysiologischer Relevanz spielt nach den bisherigen Erkenntnissen für sich allein eine substantielle Rolle (Harrison & Weinberger 2005, Norton et al. 2006). Die Beteiligung mehrerer oder vieler Gene, die möglicherweise bei verschiedenen Personen in unterschiedlicher Ausprägung vorliegen und für die Erkrankung prädisponieren, ist wahrscheinlich (Owen 2000, Harrison & Weinberger 2005, Prasad & Keshavan 2008). Aufgrund dieses angenommenen polygenen Erbgangs können keine kausalen, sondern nur risikomodulierende Gene bzw. Allele erwartet werden. Als genetische Basis der Schizophrenie wird eine Kombination mehrerer häufig vorkommender Allele mit einem kleinen bis mittleren Effekt und einiger selten vorkommender Allele mit einem relativ großen Effekt postuliert (Wang et al. 2005, Craddock et al. 2007, Owen et al. 2009). Zudem dürften sich die einzelnen prädisponierenden Genloci in noch nicht vorhersagbarer Weise gegenseitig beeinflussen. Darüber hinaus spielen kombinierte Einflüsse und Interaktionen von

epigenetischen (Petronis 2006), stochastischen und nichtgenetischen Faktoren eine Rolle (Rutter et al. 2006, Braff et al. 2007).

Bislang sind für die Schizophrenie die Anzahl der prädisponierenden Genloci, das von jedem Genort übertragene anteilige Risiko sowie epistatische Effekte unbekannt. Zur Entdeckung oder Einengung chromosomaler Regionen, worin sich für das Erkrankungsrisiko relevante DNA-Varianten befinden, bieten sich auf molekulargenetischer Ebene zwei einander ergänzende Ansätze an: Kopplungs- und Assoziationsstudien.

Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie

Ziel von Kopplungsanalysen ist der Nachweis der gemeinsamen Vererbung eines polymorphen Markers mit bekannter chromosomaler Lokalisation und einer Erkrankung innerhalb einer Familie. Untersucht werden dabei Geschwisterpaare, Trios (Betroffene und Eltern) und Multiplexfamilien (Familien mit mehreren Betroffenen), da sich bei diesen so genannten Kernfamilien eher Homogenität der genetischen Ursachen annehmen lässt (Bayler et al. 2002).

Die Hoffnung, die den ersten Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie zugrunde lag, Gene mit einer Hauptwirkung zu identifizieren, wurde nicht erfüllt. Die meisten Kopplungsstudien fanden keine stringente genomweite Signifikanzniveaus, und erste positive Kopplungsergebnisse konnten nicht repliziert werden (Owen et al. 2004). Zudem waren die gefundenen Kandidatengenregionen jeweils sehr groß und 58% des Genoms waren in mindestens einer genomweiten Kopplungsstudie mit der Erkrankung gekoppelt (Sullivan et al. 2008). Diese Befunde sind vermutlich auf eine Kombination aus geringem genetischem Effekt, zu kleiner Stichprobengröße und dem Gebrauch nicht optimaler Genomkartierungen zurückzuführen (Owen et al. 2005).

In drei Metaanalysen wurde versucht, die wichtigsten Kopplungssignale darzustellen. Die Studie von Lewis et al. (2003) wertete die Daten von 20 genomweiten publizierten und nicht publizierten Kopplungsstudien zur Schizophrenie aus, während Badner & Gershon (2002) nur publizierte Daten einbezogen. Die aktuellste Metaanalyse von Ng et al. (2008) bezog 32 genomweite Kopplungsstudien zur Schizophrenie ein. In einem zweiten Schritt begrenzten Ng und Kollegen die Auswertung auf 22 Kopplungsstudien, in denen ausschließlich Personen

europäischer Herkunft analysiert wurden (Ng et al. 2008). Die Daten der drei Metaanalysen sind insgesamt divergent, die Überlappungsbereiche eher gering. Die Analyse von Badner & Gershon (2002) weist auf Suszeptibilitätsgene auf den Chromosomen 8p, 13q und 22q hin, wohingegen bei Lewis et al. (2003) der Genabschnitt 2p12-q22.1 eine genomweite signifikante Kopplung erreichte. Starke Hinweise für Kopplung konnten bei Lewis et al. (2003) auch für folgende chromosomalen Loci gefunden werden: 5q23.2-q34, 3p25.3-p22.1, 11q22.3-q24.1, 6pter-p22.3, 2q22.1-q23.3, 1p13.3-q23.3, 22pter-q12.3, 8p22-p21.1, 20p12.3-p11, 14pter-q13.1. Die Metaanalyse von Ng et al. (2008) erbrachte in der Gesamtstichprobe (32 Studien) eine genomweite signifikante Kopplung für den Chromosomenabschnitt 2q (118.7-152 Mb), wohingegen in der ausschließlich europäisch-stämmigen Stichprobe (22 Studien) keine solche Kopplung gefunden wurde. Für die zwei Chromosomenabschnitte 5q (141.8-167.7 Mb) und 2q (103.3-134.0 Mb) wurden in der Gesamtstichprobe Kopplungshinweise gefunden, während in sich der europäisch-stämmigen Gruppe eine Kopplung für Chromosom 8p (15.7-32.7 Mb) ergab (Ng et al. 2008).

Diese Befunde unterstützen die Hypothese, dass multiple genetische Loci mit jeweils moderatem Effekt bei der Vulnerabilität der Schizophrenie eine Rolle spielen. Die Relevanz der positiven Kopplungsbefunde kann jedoch erst dann abschließend beurteilt werden, wenn ihre Bedeutung für die Krankheitsentwicklung nachgewiesen werden kann, d.h. wenn Gene in diesen Kopplungsregionen identifiziert werden, die sowohl eine Assoziation mit der Erkrankung aufweisen als auch funktionelle Relevanz besitzen.

Assoziationsstudien (Kandidatengestudien) zur Schizophrenie

Assoziationsstudien stellen einen alternativen und ergänzenden molekulargenetischen Ansatz zur Identifizierung potentieller Risikogene dar. Der Vorteil ist, dass auch solche Suszeptibilitätsgene detektiert werden können, die einen geringen Effekt aufweisen. Ziel der Assoziationsanalyse ist es, durch Vergleich einer Patienten- mit einer Kontrollstichprobe, ein genetisches Merkmal nachzuweisen, welches mit der Erkrankung assoziiert ist. Dabei werden vermeintlich positionelle Kandidatengene und/oder potentiell funktionell relevante Gene untersucht. In Kandidatengestudien werden also Gene analysiert, die im Vorfeld als plausible Kandidaten galten. Dies kann als eine Schwäche des Untersuchungsdesigns angesehen werden, da keine neuen – vorab mit der Erkrankung nicht in Zusammenhang gebrachte – Genvarianten untersucht werden. Zudem besteht das Problem, dass unter anderem

auch aufgrund zu kleiner Stichprobengrößen, etliche Falsch-Positive Befunde publiziert werden, die anschließend von anderen Arbeitsgruppen nicht repliziert werden können (Lohmueller et al. 2003).

Genomweite Assoziationsstudien (GWA) zur Schizophrenie

Seit einigen Jahren werden – auch aufgrund der Fortschritte in der Genchip-Technologie – zur Identifizierung möglicher Suszeptibilitätsgene vermehrt genomweite Assoziationsstudien (GWA) durchgeführt. Hierbei werden mit Hilfe von DNAChips die Häufigkeiten der Allele spezieller SNPs bei Patienten und gesunden Kontrollprobanden verglichen. Der Unterschied zu den Kandidatengenstudien liegt im hypothesenfreien Ansatz der Methode: Es werden mit einem DNA-Chip zeitgleich mehrere Hunderttausend SNPs einer Testperson untersucht, ohne dass diese vorab auf ihre funktionelle oder positionelle Relevanz für das Erkrankungsrisiko untersucht wurden. Hierdurch können auch Polymorphismen, die im Vorfeld nicht mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht wurden, als risikosteigernde Varianten identifiziert werden. Um den Genotypisierungsaufwand und damit die Kosten einer Studie zu reduzieren, werden neben GWAs mit individueller Genotypisierung auch genomweite Analysen basierend auf einer gepoolten Genotypisierung durchgeführt. Bei der gepoolten Genotypisierung werden zwei DNA-Pools hergestellt, von denen der eine die DNA der Patienten, der andere die der gesunden Kontrollprobanden enthält. Dazu werden äquimolare Anteile der individuellen DNA-Proben zu einem Pool vereint. Die Allelfrequenz wird dann in jeder gepoolten DNA-Probe bestimmt. Werden bei der Auswertung unterschiedliche Allelfrequenzen in den Proben der Patienten und der Kontrollen festgestellt, werden in einem zweiten Schritt die DNA-Proben (eines Teils) derselben Personen individuell genotypisiert und ausgewertet. Bei der individuellen Analyse werden die Allelfrequenzen aller auf dem Genchip befindlichen Marker für jeden einzelnen Studienteilnehmer bestimmt. Bisher wurden sechs GWAs veröffentlicht, die den Zusammenhang zwischen Schizophrenie und genetischen Markern analysieren. Drei Studien (Mah et al. 2006, Shifman et al. 2008, Kirov et al. 2009) basierten auf der Analyse einer gepoolten Genotypisierung, drei Studien führten eine individuelle Genotypisierung durch (Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008).

Die erste 2006 publizierte Studie von Mah et al. verwendete gepoolte DNA und analysierte über 25000 SNPs aus 14000 Genen in einer Stichprobe von 320 Patienten mit einer

Schizophrenie oder einer schizoauffektiven Störung und 325 Kontrollprobanden. Sie fanden eine Assoziation zwischen dem Gen PLXNA2 auf Chromosom 1q32 und Schizophrenie bzw. schizoauffektiver Störung (Mah et al. 2006). Shifman et al. (2008) untersuchten in einer Stichprobe aschkenasischer Juden den Zusammenhang zwischen genetischen Markern und Schizophrenie. Sie führten eine GWA mit gepoolter DNA durch. Sie fanden eine geschlechtsspezifische, auf Frauen beschränkte Assoziation eines Markers des Reelin-Gens auf Chromosom 7. Auch in vier Replikationsstichproben aus Großbritannien, Irland, USA und China wurde dieser geschlechtsspezifische Zusammenhang gefunden (Shifman et al. 2008). Kirov et al. (2009) untersuchten in einer familienbasierten genomweiten Assoziationsstudie insgesamt 2327 kaukasische Personen. Die höchste Assoziation ($p = 1.2 \times 10^{-6}$) wurde für den Marker rs11064768 im CCDC60-Gen auf Chromosom 12 berichtet (Kirov et al. 2009).

Lencz et al. untersuchten 500.000 SNPs in 178 Patienten mit einer Störung aus dem schizophrenen Spektrum und 144 gesunde Kontrollprobanden und fanden eine Assoziation zwischen dem Gen CSF2RA (colony stimulating factor, receptor 2 alpha) und der Erkrankung (Lencz et al. 2007). Sullivan et al. fanden in ihrer Fall-Kontroll-Stichprobe keine genomweit signifikanten Assoziationen mit Schizophrenie, wobei sie dies vor allem auf die zu kleine Stichprobe (738 Patienten und 733 Kontrollprobanden) zurückführen (Sullivan et al. 2008). O'Donovan et al. führten eine genomweite Assoziationsstudie an einer Stichprobe bestehend aus 479 Patienten und 2937 Kontrollprobanden durch und untersuchten die zwölf am stärksten assoziierten Loci ($p < 10^{-5}$) in zwei multizentrisch rekrutierten Replikationsstichproben gemischter Abstammung ($n = 16726$). Es wurden für drei Loci auf Chromosom 2q32.1, 11p14.1 und 16p13.12 signifikante Assoziationen mit Schizophrenie gefunden. Der am stärksten assoziierte Locus war ZNF804A (2q32.1), der nicht nur mit Schizophrenie sondern auch mit Bipolaren Störungen eine Assoziation aufwies (O'Donovan et al. 2008).

In einer vom International Schizophrenia Consortium durchgeführten GWA konnte der Zusammenhang des Locus ZNF804A (2q32.1) mit Schizophrenie bestätigt werden, obschon es sich bei dem gefundenen Resultat nicht um eine genomweit signifikante Assoziation handelt (International Schizophrenia Consortium, Purcell et al. 2009). Darüber hinaus berichten die Autoren über Assoziationen der Erkrankung mit einem SNP auf Chromosom 22 und mehr als 450 SNPs in der MHC (major histocompatibility complex)-Region auf Chromosom 6 (International Schizophrenia Consortium, Purcell et al. 2009).

Shi et al. (2009) konnten in ihrer GWA keine genomweiten Assoziationen mit Schizophrenie eruieren. Die Autoren führten auch eine Metaanalyse durch, in der sie neben dem Sample des International Schizophrenia Consortium (International Schizophrenia Consortium, Purcell et al. 2009) auch die Daten zweier anderer großen Studien (Molecular Genetics of Schizophrenia (MGS) und SGENE) analysierten. Die Metaanalyse erbrachte für das kaukasische Sample signifikante Zusammenhänge zwischen Schizophrenie und sieben SNPs in der chromosomalen Region 6p22.1 (Shi et al. 2009).

Stefansson et al. (2009) fanden in ihrer GWA keine genomweit signifikante Assoziation mit Schizophrenie. Die Kombination ihre besten 1500 Marker mit denen des International Schizophrenia Consortium (International Schizophrenia Consortium, Purcell et al. 2009) und von Shi et al. (2009) erbrachte eine genomweit signifikante Assoziationen mit einigen Markern aus der MHC (major histocompatibility complex)-Region auf Chromosom 6p21.3-22.1, einem Marker in der Region 11q24.2 und einem Marker in der Region 18q21.2 (Stefansson et al. 2009).

In Kopplungs- und Assoziationsstudien sind bislang mehrere chromosomale Loci identifiziert worden, die für die Entstehung der Schizophrenie eine Rolle spielen könnten (Abbildung 3). In einer Studie von Sanders et al. (2008) konnten jedoch in einer großen Stichprobe europäischer Patienten und Kontrollprobanden für 14 Kandidatengene für Schizophrenie nach Korrektur für multiples Testen keine Assoziationen einzelner, häufiger Polymorphismen dieser Gene und der Erkrankung gefunden werden. Dies bedeutet jedoch nicht, dass diese Gene keinen Beitrag zur Krankheitsentstehung in einzelnen Schizophrenie-Subgruppen leisten (Hamilton 2008).

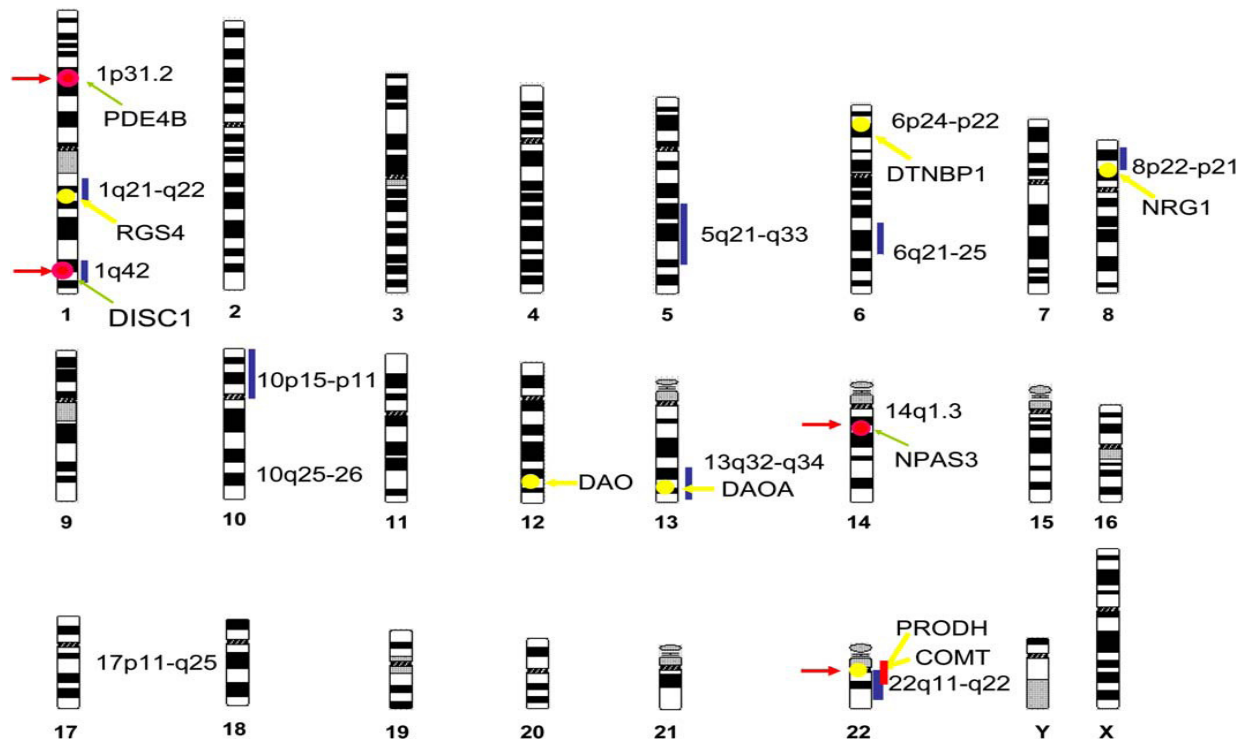


Abbildung 3: Lokalisation von Kopplungsergebnissen und Genen, Forschungsstand 2005/2006

Die blauen vertikalen Linien zeigen die chromosomalen Regionen mit signifikanter Kopplung mit Schizophrenie an. Chromosomale Deletionen sind mit roten vertikalen Linien gekennzeichnet. Die roten Pfeile zeigen die Position von chromosomalen Abnormalitäten an, die mit Schizophrenie assoziiert sind. Die gelben Pfeile und Kreise kennzeichnen die Gene, die durch Kopplungs- und Assoziationsstudien identifiziert wurden. Ein roter Pfeil am roten Kreis charakterisiert Gene, die via Translokation identifiziert wurden. (Ross et al. 2006, adaptiert von Owen et al. 2005)

Neuere Forschungsbemühungen haben ihr Augenmerk auf sogenannte Copy Number Variations (CNVs) als mögliche risikosteigernde genetische Varianten gelenkt. CNVs stellen eine wichtige Quelle der Variabilität im menschlichen Genom dar und haben definitionsgemäß eine Länge von 1000 bis drei Millionen Basen, die zwischen verschiedenen Individuen aufgrund von Duplikation oder Deletion variieren können. Die Detektion von vielen CNVs kann im Rahmen von GWAs mit geringem zusätzlichem Aufwand durchgeführt werden. In der Zwischenzeit wurden mehrer Studien veröffentlicht, in denen der Zusammenhang zwischen CNVs und Schizophrenie untersucht wurde. Kirov et al. (2008) fanden eine *de novo* Duplikation von 1.4 Mb auf Chromosom 15 sowie eine selten übertragene Deletion welche Einfluss auf das Neurexin 1 Gen hat. Deletionen im Neurexin 1 Gen wurden sowohl im Zusammenhang mit Autismus als auch mit mentaler Retardierung berichtet (Autism Genome Project Consortium, 2007). Eine erhöhte Rate von CNVs in Exons

des Neurexin Gens wurde in Zusammenhang mit Schizophrenie berichtet (Rujescu et al. 2009). Die Ergebnisse einer Studie liefern Hinweise dafür, dass die Rate der *de novo* CNVs bei Patienten mit einer Schizophrenie in erhöhtem Maß vorliegen könnten: 10% bei Schizophreniepatienten im Vergleich zu <2% bei Kontrollprobanden (Xu et al. 2008). Dass selten vorkommende CNVs das Erkrankungsrisiko einer Schizophrenie drastisch erhöhen können, ist schon länger bekannt: Eine Deletion auf Chromosom 22q11 ist nicht nur für das Velo-Cardio-Faziale Syndrom verantwortlich, sondern erhöht auch das Risiko an einer Schizophrenie zu erkranken (Murphy et al. 1999). Zwischenzeitig wurden drei Studien (International Schizophrenia Consortium 2008, Stefansson et al. 2008, Walsh et al. 2008) veröffentlicht, die darauf hindeuten, dass auch weitere selten vorkommende CNVs bei Patienten mit einer Schizophrenie in erhöhter Rate vorliegen. In zwei Studien (International Schizophrenia Consortium 2008, Stefansson et al. 2008) wurden Assoziationen zwischen der Schizophrenie und den gleichen zwei Deletionen berichtet, eine auf Chromosom 1q21.1 (Position 142.5 - 145.5 Mb) und eine auf Chromosom 15q13.2 (Position 28 - 31 Mb). Die CNVs waren selten und hatten einen starken Einfluss auf das Erkrankungsrisiko (1q21.1: OR = 6.6, 15q13.2: OR = 17.9, Stefansson et al. 2008). Beide CNVs umfassen mehrere Gene, die nicht nur für Schizophrenie sondern auch für andere Erkrankungen (z.B. Autismus, mentale Retardierung) als Kandidatengene gelten können (Owen et al. 2009). Obwohl CNVs einen starken Einfluss auf das Erkrankungsrisiko zu haben scheinen, stellt ihr Vorliegen keine hinreichende Bedingung für das Auftreten einer Erkrankung wie beispielsweise der Schizophrenie dar, da sie auch in Personen gefunden wurden, die nie an einer psychotischen Störung gelitten haben (Owen et al. 2009).

Die Identifikation der genetischen Varianten, die das Erkrankungsrisiko erhöhen, gestaltet sich unter anderem aufgrund der genetischen Heterogenität der Schizophrenie schwierig. Für keines der in der Literatur im Zusammenhang mit Schizophrenie diskutierten Gene konnte bislang eine direkt pathogen wirksame Genvariante identifiziert werden. Daher ist die biologische Basis der Erkrankung immer noch nicht vollständig bekannt. Einige neuroanatomische und neurobiochemische Veränderungen werden jedoch bei schizophrenen Patienten gehäuft berichtet. Die Frage, inwieweit diese Alterationen einen kausalen Charakter haben oder als Konsequenzen der Erkrankung oder der medikamentösen Behandlung anzusehen sind, ist derzeit nicht geklärt (Lang et al. 2007).

2.1.4.3 Neuroanatomische und neurobiochemische Veränderungen bei schizophrenen Patienten

Neuroanatomische Veränderungen

Durch *post-mortem* Untersuchungen von Hirngewebe und mit Hilfe struktureller Bildgebung konnten bei schizophrenen Patienten strukturelle Hirnveränderungen nachgewiesen werden.

Makroskopisch handelt es sich bei den konsistentesten strukturellen Auffälligkeiten um Erweiterungen der Ventrikel (Seitenventrikel und 3. Ventrikel), reduzierte Volumina im medialen Temporallappen (hippocampale Formation, Subiculum, parahippocampaler Gyrus) und vor allem im linken, superioren temporalen Gyrus (Ward et al. 1996, Lawrie & Abukmeil 1998, Nelson et al. 1998, Wright et al. 2000). Es gibt zudem Anhaltspunkte für eine Volumenreduktion der Frontallappen sowie Anomalien der Parietallappen (McCarley et al. 1999). Hinweise liegen auch für erweiterte Cavum septi pellucidi sowie für Besonderheiten der Basalganglien, des Corpus callosum, des Thalamus und des Cerebellum vor (Antonova et al. 2004, Honea et al. 2005). Der kortikale Volumenverlust scheint eher die graue als die weiße Substanz zu betreffen (Zipursky et al. 1998, Wright et al. 2000). Die derzeitige Datenlage ist jedoch nicht ausreichend konsistent um mit Sicherheit sagen zu können, welche Hirnstrukturen Abnormitäten aufweisen. Zudem sind bei unterschiedlichen Patienten möglicherweise verschiedene Strukturen abnorm verändert. Auch scheinen in unterschiedlichen Krankheitsstadien verschiedene Strukturen betroffen zu sein (DeLisi 2008). Einige Befunde deuten beispielsweise darauf hin, dass kortikale Veränderungen zu ventrikulären Erweiterungen führen, wodurch in bildgebenden Verfahren kortikale vor ventrikulären Veränderungen beobachtbar sind (DeLisi 2008).

Auffällige Gehirnstrukturen sind via Magnetresonanztomographie schon vor dem Ausbruch der Erkrankung feststellbar (Lymer et al. 2006, DeLisi et al. 2006). Ähnliche Veränderungen wurden auch bei erkrankten und nichterkrankten Verwandten schizophrener Patienten gefunden. Im Vergleich zu äquivalenten Kontrollprobanden wurde bei den Verwandten sowohl eine Reduktion der kortikalen grauen Substanz (Cannon et al. 1998) und des Thalamus (Staal et al. 1998) als auch eine Erweiterung der Sulcus- und Ventrikelvolumina festgestellt (Cannon et al. 1998, Staal et al. 1998). Daraus lässt sich folgern, dass gemeinsame

genetische Faktoren eine Rolle bei der Krankheitsentstehung im Sinne einer Vulnerabilitätsentwicklung spielen.

Bislang ist nicht geklärt, ob die beobachteten Veränderungen im Sinne einer Hirnentwicklungsstörung zu verstehen sind oder auf degenerative Vorgänge hindeuten. Ein wichtiges Argument gegen einen neurodegenerativen Prozess ist das Fehlen von Gliose in *post-mortem* Gewebe schizophrener Patienten (Harrison 1999). Andererseits deuten die Ergebnisse einiger, jedoch nicht aller Studien auf ein Fortschreiten der strukturellen Veränderungen hin (Rapoport et al. 2005). Zunehmend wird die These vertreten, dass beide Ansätze sich nicht ausschließen, sondern einander ergänzen könnten. Strukturelle bildgebende Verfahren weisen darauf hin, dass abnorme Prozesse in der Schizophrenie in unterschiedlichen Stadien der Hirnentwicklung stattfinden (DeLisi 2008). Es gibt Anhaltspunkte für eine frühe Hirnentwicklungsstörung (prä- oder perinatal) vor allem des temporo-limbischen und des entorhinalen Kortex sowie des Hippokampus (Lipska et al. 1995, Kinney et al. 1998, Weinberger 1999, McNeil et al. 2000) wodurch das Gehirn möglicherweise vulnerabel für spätere abweichende Prozesse in der Entwicklung (vor allem postpubertal) gemacht wird. Diese abweichenden Entwicklungsprozesse interagieren möglicherweise mit anderen kausalen Faktoren, die mit dem Ausbruch der Schizophrenie assoziiert sind (z. B. Stress, Substanzmissbrauch, etc.), wodurch neuroprogressive Folgeerkrankungen hervorgerufen werden, die neurodegenerativ sein können (Pantelis et al. 2005, Rapoport et al. 2005). Nach Ausbruch der Erkrankung kommt es daher möglicherweise zu einer progressiven Abnahme der grauen Substanz im temporalen und frontalen Kortex (Ho et al. 2003).

Zusätzlich zu neuroanatomischen werden auch neurobiochemische Veränderungen bei schizophrenen Patienten berichtet.

Neurobiochemische Veränderungen

Bei Schizophreniepatienten werden Auffälligkeiten in mehreren Neurotransmittersystemen und funktionalen Netzwerken des Gehirns berichtet.

Die Dopaminhypothese der Schizophrenie basiert auf der Beobachtung, dass viele Neuroleptika über die Blockade postsynaptischer Dopamin-D₂ (und D₂ ähnlicher)-Rezeptoren

wirken und dass durch Dopaminagonisten (z. B. Amphetamine) in gesunden Personen eine der Schizophrenie ähnliche Positiv-Symptomatik sowie bei Schizophreniepatienten eine erneute Exazerbation ausgelöst werden kann (Kapur et al. 1996, Möller 2005, Ross et al. 2006).

Die Dopaminhypothese postulierte anfangs eine reine Überaktivität des dopaminergen Systems bei schizophrenen Patienten (Carlsson & Lindqvist 1963, Carlsson 1967, Davis et al. 1991). *Post-mortem* Studien wiesen zunächst auf eine möglicherweise erhöhte Dichte von striatären Dopamin-D₂-Rezeptoren bei schizophrenen Patienten hin (Mackay et al. 1980a, Seeman et al. 1984), was möglicherweise jedoch das Ergebnis der langjährigen neuroleptischen Behandlung gewesen sein könnte (Clow et al. 1980, Mackay et al. 1980b). Studien, die funktionelle bildgebende Verfahren einsetzten, konnten *in vivo* bei unmedizierten Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden keine Unterschiede in der D₂-Rezeptordichte finden (Farde et al. 1990, Martinot et al. 1991, Pilowsky et al. 1994). Die Ergebnisse aus Metaanalysen deuten auf eine leichte Erhöhung von Dopamin-D₂-Rezeptoren in unmedizierten Patienten mit Schizophrenie hin (Laruelle 1998, Zakzanis & Hansen 1998). Das Ausmaß der Überlappung zwischen Patienten und gesunden Kontrollen lässt es jedoch unwahrscheinlich erscheinen, dass diese Auffälligkeiten klinisch relevant ist (Zakzanis & Hansen 1998).

Einige schizophrene Patienten zeigen eine präsynaptisch deutlich erhöhte Produktion von Dopamin im Bereich des Striatums, auch wenn sie noch nie mit Neuroleptika behandelt wurden (Reith et al. 1994). 1996 konnte eine Arbeitsgruppe von der Columbia University zeigen, dass die Gabe von Amphetamin, das präsynaptisch Dopamin freisetzt, bei schizophrenen Patienten eine deutlich erhöhte Dopaminfreisetzung im Bereich des Striatums im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden bewirkt (Laruelle et al. 1996). Dieser Befund konnte in weiteren Studien repliziert werden (Breier et al. 1997, Abi-Dargham et al. 1998). Eine erhöhte Amphetamin-induzierte Dopaminfreisetzung konnte auch bei Personen mit einer schizotypen Persönlichkeitsstörung (Abi-Dargham et al. 2004) gefunden werden, nicht aber bei solchen mit einer Major Depression (Parsey et al. 2001) oder einer bipolaren Störung (Anand et al. 2000). Dass akut psychotische Patienten auch ohne Drogeneinnahme eine erhöhte Dopaminfreisetzung aufweisen, zeigte eine weitere Studie der Arbeitsgruppe an der Columbia University (Abi-Dargham et al. 2000). Die Studie lieferte Hinweise für eine erhöhte Dopaminkonzentration in den striatären Synapsen, die mit der Stärke positiver Symptome

korrelierte – ein Befund, der bereits in früheren Studien gefunden wurde (Abi-Dargham et al. 1998).

Aus heutiger Sicht wird bei schizophrenen Patienten ein mesolimbisch-mesokortikales Ungleichgewicht diskutiert. Es wurde postuliert, dass Negativsymptome und kognitive Defizite von einer verminderten dopaminergen Aktivität im präfrontalen Kortex (PFC) herrühren könnten (Davis et al. 1991, Andreasen 1999). Aufgrund der reziproken Beziehung zwischen kortikalen und subkortikalen Dopaminsystemen kann eine Unterfunktion der dopaminergen Neurotransmission im PFC zu einer Enthemmung der striären Dopaminfreisetzung führen (Abi-Dargham & Moore 2003). Positivsymptome der Schizophrenie werden als ein Resultat dieser sekundären dopaminergen Hyperaktivität im Striatum angesehen (Abi-Dargham & Moore 2003). Die Entstehung der initialen präfrontalen Dopaminhypoaktivität konnte bislang ebenso wenig geklärt werden wie die Tatsache, dass Schizophreniepatienten bis zur Spätadoleszenz in der Regel keine Positivsymptome zeigen (Stone et al. 2007).

Neben der Dopaminhypothese der Schizophrenie wird eine Erweiterung dieser Hypothese im Sinne einer Beteiligung anderer Transmittersysteme (glutamaterger, serotonerger und GABAerger Systeme) diskutiert.

Die Glutamathypothese geht von einer Unterfunktion des glutamatergen Systems aus. Die Hypothese der NMDA-Rezeptor-Hypofunktion (Olney & Farber 1995, Olney et al. 1999) wurde aufgrund der Beobachtung entwickelt, dass Phencyclidin (PCP) und Ketamin – beides non-kompetitive Antagonisten am NMDA-Rezeptor – schizophrene Symptomatik einschließlich Negativsymptomatik in gesunden Personen auslösen (Krystal et al. 1994). Das glutamaterge Transmissionssystem unterhält reziproke Interaktionen mit anderen Neurotransmittersystemen, am häufigsten mit dem dopaminergen und dem GABAergen System. Der NMDA-Rezeptor ist auf GABAergen inhibitorischen Neuronen lokalisiert, die glutamaterge Pyramidenzellen hemmen. Liegt eine NMDA-Rezeptor-Hypofunktion vor, ist die Aktivität der GABAergen Neurone vermindert (Olney et al. 1991). Dieser verminderte inhibitorische Tonus bewirkt primär eine exzessive Glutamatfreisetzung. Die Folge dieser übermäßigen kortikalen Glutamatfreisetzung ist eine Excitotoxizität, die zur Zerstörung der GABAergen Interneurone führt (Stone et al. 2007). In diese Richtung deuten auch die Befunde, dass in frontalen und hippocampalen Regionen schizophrener Patienten eine

Reduktion von GABAergen Interneuronen gefunden wurde (Benes 2000, Reynolds et al. 2004).

Bei gleichzeitig verminderter Glutamat- und erhöhter Dopaminkonzentration wurde zunächst postuliert, dass der Schizophrenie ein primäres Glutamatdefizit mit sekundärer Dopaminüberfunktion zugrunde liegen könnte (Ebert & Loew 2005). Da auf der einen Seite glutamaterge Neurone im Hippocampus und im Kortex von Dopamin moduliert werden, auf der anderen Seite aber Glutamat die Aktivität dopaminerger Neurone reguliert, konnte bislang jedoch nicht geklärt werden, ob und wenn ja, welches der beiden Neurotransmittersysteme als das ursächlich dysfunktionale System anzusehen ist (Stone et al. 2007).

Möglicherweise verursachen dopaminerge und glutamaterge Dysfunktionen unterschiedliche psychopathologische Symptome. Hinweise hierfür liefern die Befunde, dass Wirkstoffe, welche die NMDA-Rezeptorfunktion erhöhen, vorwiegend Negativsymptome verbessern und auf Positivsymptome keine signifikanten Effekte zeigen (Tuominen et al. 2005, Javitt 2006), während eine Amphetamin-induzierte Dopaminfreisetzung mit einer Verschlechterung der Positivsymptome nicht aber der Negativsymptome korreliert zu sein scheint (Abi-Dargham et al. 1998). Diese und weitere Befunde lassen die sehr vereinfachte Hypothese zu, dass den Negativsymptomen der Schizophrenie eine Dysfunktion der NMDA-Rezeptorfunktion zugrunde liegen könnte, während die Positivsymptomatik möglicherweise auf eine verstärkte dopaminerge Neurotransmission zurückzuführen ist (Stone et al. 2007).

Die Rolle des Einflusses des serotonergen Systems auf die Manifestation der Schizophrenie wird gestützt durch die Beobachtung, dass die Einnahme von Halluzinogenen wie Lysergsäurediethylamid (LSD), einem 5-HT Agonisten, psychotische Symptome hervorruft (Meltzer 1987, Abi-Saab et al. 1998, Gouzoulis-Mayfrank et al. 2005). Zudem weisen fast alle atypischen Neuroleptika neben dem Dopamin-D₂- auch einen Serotonin-5HT-Antagonismus auf (Ichikawa et al. 2001, Díaz-Mataix et al. 2005, Terry et al. 2008). Serotonerge Neurone aus dem rostralen Anteil der Raphekerne projizieren zu verschiedenen Teilen des Frontallappens. Mehrere Studien fanden eine Erhöhung der 5-HT_{1A}-Rezeptoren im präfrontalen und temporalen Kortex sowie eine Reduktion der 5-HT₂-Rezeptoren im präfrontalen Kortex (Laruelle et al. 1993). Aufgrund dieser Befunde wurde postuliert, dass die gesteigerte dopaminerge Funktion ein Resultat des Wegfalls der serotonergen Hemmung des präfrontalen Kortex auf subkortikale Strukturen sein könnte (Kapur & Remington 1996). Bei

Schizophreniepatienten liegen jedoch neurobiochemisch Dysbalancen unterschiedlicher Neurotransmittersysteme vor, deren genaues Zusammenspiel noch nicht hinreichend bekannt ist.

Die pathophysiologischen Signalwege, zwischen den involvierten Genen und den einzelnen beobachtbaren Symptomen der Schizophrenie gelegen, haben möglicherweise auf andere weniger komplexe Phänotypen als den der nosologischen Einheit Schizophrenie einen direkteren und damit einfacher zu erforschenden Einfluss. Das Konzept der Endophänotypen bietet eine Möglichkeit Phänotypen zu untersuchen, von denen angenommen wird, dass sie zwischen der genetischen Basis und dem klinischen Phänotypen der Schizophrenie zu lokalisieren sind.

2.2 Endophänotypen

2.2.1 Das Konzept der Endophänotypen

Die Ätiologie und die einzelnen genetischen Risikofaktoren der Schizophrenie sind trotz des Nachweises einer hohen Heritabilität nach wie vor ungeklärt. Obwohl in symptom-basierten Kopplungs- und Assoziationsstudien mehrere chromosomale Regionen und Vulnerabilitäts-gene für Schizophrenie gefunden und teilweise auch repliziert werden konnten (Harrison & Weinberger 2005, Owen et al. 2005), ist die Ergebnis-lage insgesamt inkonsistent. Ein Grund hierfür ist die ätiologische Heterogenität der klinischen Diagnose Schizophrenie in zweifacher Hinsicht: Zum einen ist die Störung wahrscheinlich multifaktoriell bedingt, zum anderen können die beitragenden ätiologischen Faktoren trotz gleicher Diagnose von Patient zu Patient variieren (Zobel & Maier 2004). Jeder schizophrene Patient weist wahrscheinlich mehrere risikosteigernde Allele unterschiedlicher Gene auf, die ihre Effekte kombinieren. Diese individuelle Kombination von Risikovarianten variiert zwischen den Patienten, so dass zwei Betroffene bestenfalls eine teilweise Übereinstimmung in ihren individuellen Risikoallelen aufweisen. Die funktionellen Konsequenzen der risikosteigernden Allele hängen auch von günstigen und ungünstigen Umgebungsfaktoren ab, die ihrerseits eine hohe interindividuelle Variation zeigen. Dieselbe Kombination von risikomodulierenden Genen kann bei verschiedenen Personen unterschiedliche Effekte auf die Krankheitsentstehung haben. Da die ätiologische Heterogenität der klinischen Diagnose als eine Ursache für die

inkonsistente Ergebnislage bei der Identifikation von Suszeptibilitätsgenen für Schizophrenie gesehen wird, werden andere Phänotypdefinitionen angestrebt, die eine größere ätiologische Homogenität und eine weniger komplexe genetische Determination aufweisen.

Eine Möglichkeit hierzu ist die klinisch-psychopathologische Subtypisierung, die in vielen medizinischen Bereichen (Alzheimer-Erkrankung, Brustkrebs, Darmkrebs, Melanome, etc.) zur erfolgreichen Identifikation von Krankheitsgenen geführt hat (Zobel & Maier 2004). Bei der Schizophrenie stellt das Ersterkrankungsalter scheinbar eine geeignete Größe zur Subtypisierung dar. Einige Studien berichten eine höhere Korrelation des Ersterkrankungsalters zwischen monozygoten im Vergleich zu dizygoten Zwillingen (Kendler et al. 1987). Auch wurde für die juvenile Schizophrenie im Vergleich zur Schizophrenie im Erwachsenenalter eine höhere familiäre Belastung gefunden (Nicolson & Rapoport 1999). Durch die gängige Differenzierung in paranoide, hebephrene und desorganisierte Subtypen konnte hingegen keine ätiologische Homogenisierung erreicht werden (Zobel & Maier 2004). In Zwillingsstudien konnte für Einzelsymptome oder Kernsymptome keine stärkere Heritabilität gefunden werden als für die klinisch-psychiatrische Schizophreniediagnose (Cardno et al. 2001, 2002). Auch die Subtypisierung nach Leonhard erbrachte bislang keine schlüssigen Belege für eine stärkere psychopathologische und ätiologische Homogenität der einzelnen Unterformen im Vergleich zur Gesamtgruppe der Schizophrenie (Zobel & Maier 2004). Zwillingsstudien weisen jedoch auf eine relative genetische Homogenität der periodischen Katatonie hin (Franzek & Beckmann 1996). Dieser Befund konnte bislang allerdings noch nicht repliziert werden. Auch die darauf aufbauenden Kopplungsanalysen (Stöber et al. 2000) erbrachten im Vergleich zur Schizophrenie keine stärkeren Kopplungssignale. Für die Schizophrenie konnte bislang mittels klinisch-pathologischer Subtypisierung keine allgemein akzeptierte und validierte Lösung des Problems der ätiologischen Heterogenität gefunden werden (Zobel & Maier 2004). Auch die derzeit sich im Einsatz befindenden Auflagen der Klassifikationssysteme (ICD 10 und DSM-IV) vermögen es nicht, das Problem der ätiologischen Heterogenität zu lösen.

Ein alternativer Ansatz besteht jenseits der psychopathologischen auf der neurobiologischen Ebene, wobei die neurobiologischen Korrelate der Erkrankung (z. B. der Schizophrenie) als Phänotypen dienen. Dieser Ansatz wurde unter dem Konzept „Endophänotyp“ erstmals von Gottesman & Shields (1972) diskutiert und in der Folge weiterentwickelt (Gottesman et al. 1987, Gottesman & Gould 2003). Endophänotypen bzw. intermediäre Phänotypen

repräsentieren einer Erkrankung zugrunde liegende z.B. neurophysiologische und hirnanatomische Korrelate bzw. deren krankheitsbedingte Veränderungen. Während klinische Symptome unter Umständen kompensatorisches Verhalten darstellen und im Verlauf der Erkrankung und Behandlung variieren können, stellen die zugrunde liegenden neurobiologischen Dysfunktionen möglicherweise stabile Trait-Marker dar, deren genetische Basis untersucht werden kann (Gur et al. 2007). Endophänotypen werden dabei ebenso wie klinische Phänotypen als Endprodukte polymorpher Genloci verstanden, wobei der Vorteil des intermediären Phänotyps in einem postulierten näheren und direkteren Bezug zur genetischen Basis liegt. Es wird angenommen, dass weniger Gene mit einer höheren Penetranz die Endophänotypen bedingen und dass Umwelteinflüsse eine geringere Rolle spielen (Gottesman & Gold 2003, Chan & Gottesman 2008). Daher scheint es einfacher, die genetischen Faktoren dieser neurobiologischen Korrelate zu identifizieren, welche die Verbindung zwischen der genetischen Ebene und der Ebene der psychopathologisch definierten Erkrankung darstellen (Meyer-Lindenberg & Weinberger 2006). Die Annahme dabei ist, dass die genetischen Varianten, die mit dem untersuchten Endophänotypen assoziiert sind, gleichzeitig auch Suszeptibilitätsgene für z.B. Schizophrenie sind. Im Idealfall ergibt sich aus der Kenntnis der Genetik der intermediären Phänotypen auch die genetische Konstellation der Erkrankung bzw. einer pathophysiologischen Untergruppe der Erkrankung.

Es wird angenommen, dass ein intermediärer Phänotyp einen Teilaspekt der heterogenen Pathophysiologie einer Erkrankung abbilden kann, ohne dass er auf eine bestimmte Erkrankung begrenzt sein muss. Die Spezifität und Sensitivität eines Endophänotypen in Bezug auf nosologische Einheiten sind von geringerer Bedeutung (Zobel & Maier 2004). Darin spiegelt sich eine gemeinsame biologische Basis psychiatrischer Störungen wieder, die in den derzeitigen Klassifikationssystemen als distinkte Entitäten beschrieben werden (Craddock & Owen 2005). Es wird angenommen, dass die gleichen genetischen Risikovarianten für die Entstehung unterschiedlicher psychiatrischer Störungen prädisponieren. Ein häufig replizierter Befund betrifft beispielsweise die Annahme, dass dieselben potentiellen Suszeptibilitätsgene an der Entstehung schizophrener, schizoaffectiver und bipolarer Psychosen beteiligt sind (zur Übersicht: Craddock et al. 2006, Hill et al. 2008). Daher kann das Konzept der Endophänotypen in Zukunft auch den Ausgangspunkt für eine neue, biologisch orientierte Klassifikation komplexer psychiatrischer Störungen darstellen (Gottesman & Gould 2003, Zobel & Maier 2004, Braff et al. 2008). Endophänotypen eignen

sich als neurobiologische Korrelate auch als molekulare Ziele für die Entwicklung neuer medikamentöser Behandlungen beispielsweise der Schizophrenie (Thaker 2007).

Ein wichtiger Aspekt ist die Identifikation und Validierung potentieller Endophänotypen (Chan & Gottesman 2008). Gottesman & Gould fordern für die Eignung als Endophänotyp die Erfüllung folgender Kriterien (Gottesman & Gould 2003):

1. Der Endophänotyp ist mit der Erkrankung assoziiert.
2. Der Endophänotyp ist erblich.
3. Der Endophänotyp ist stabil, d. h. er manifestiert sich relativ unabhängig von der Akuität der Erkrankung.
4. Der Endophänotyp cosegregiert innerhalb von Familien mit der Erkrankung.
5. Der bei betroffenen Familienmitgliedern vorliegende Endophänotyp tritt bei gesunden Angehörigen häufiger auf als in der Allgemeinbevölkerung.

Zudem sollte ein Endophänotyp quantitativ und reliabel messbar sein, sowie mit der untersuchten Erkrankung (z. B. Schizophrenie) eine stärkere Assoziation aufweisen, als mit anderen Erkrankungen (Chan & Gottesman 2008). Endophänotypen, die diese Kriterien erfüllen, stellen möglicherweise unabhängige Risikofaktoren dar, die unterschiedliche Arten von genetischen Risiken identifizieren, die auf den ersten Blick nicht zwangsläufig mit der Erkrankung in Beziehung stehen. Einige Autoren vertreten die Meinung, dass wenige oder keine Kandidaten-Endophänotypen alle Forderungen von Gottesman & Gould erfüllen (Waldman 2005). Dennoch wird bei der Suche nach Vulnerabilitätsgenen komplexer Erkrankungen wie beispielsweise der Schizophrenie eine Vielzahl von potentiellen Endophänotypen mit unterschiedlichen Verfahren untersucht. Analysiert werden hierbei neurophysiologische, biochemische, endokrinologische, neuroanatomische sowie neuropsychologische Endophänotypen (Braff et al. 2007).

Neurophysiologische Endophänotypen

Schizophreniepatienten weisen in verschiedenen Paradigmen zur Untersuchung der neuronalen Informationsverarbeitung verschiedenartige Defizite in der frühen kortikalen und subkortikalen sensorischen Reizfilterung auf. Beispielsweise wurden bei schizophrenen Patienten und ihren nichterkrankten Verwandten sowohl eine auffallend reduzierte Präpulsinhibition (PPI) des Schreckreflexes (Cadenhead et al. 2000, Braff et al. 2001, Kumari et al. 2005) als auch eine verminderte kortikale P50 Suppression festgestellt (Siegel et al.

1984, Clementz et al. 1998, Myles-Worsley 2002). Eine dritte Gruppe neurophysiologischer Endophänotypen sind so genannte Antisakkadenfehler. Eine Vielzahl von Studien konnte zeigen, dass Schizophreniepatienten und ihre Verwandten in Antisakkadenaufgaben verglichen mit gesunden Kontrollprobanden deutlich mehr Fehler machen und die Latenz korrekt ausgeführter Antisakkaden häufig erhöht ist (Calkins et al. 2004, Ettinger et al. 2004, 2006, Reuter et al. 2005). Bemerkenswert ist, dass keine publizierte Studie eine geringere Anzahl von Antisakkadenfehlern bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden berichtet (Turetsky et al. 2007).

Neuroanatomische Endophänotypen

Mit Hilfe von bildgebenden Verfahren wurden unterschiedliche neuroanatomische Marker identifiziert, die als Endophänotypen diskutiert werden. Beispielsweise wurden bei schizophrenen Patienten Defizite der grauen Hirnsubstanz im Bereich des Cerebellum (Marcelis et al. 2003), des fronto-striato-thalamischen Systems sowie des linken Temporallappens (McDonald et al. 2004) berichtet. Ein weiterer häufig replizierter Befund betrifft die Hypofrontalität bei schizophrenen Patienten. In einer Metaanalyse wurden bei ca. 50% der Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden ein verminderter Blutfluss sowie ein Hypometabolismus in frontalen Regionen während der Lösung einer kognitiven Aufgabe festgestellt (Davidson & Heinrichs 2003).

Auch neurobiologische Korrelate neuropsychologischer Endophänotypen wurden mittels bildgebender Verfahren analysiert. Beispielsweise wurden in Studien welche Exekutivfunktionen und Gedächtnis mit Hilfe funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT) untersuchten, Abweichungen in folgenden Bereichen berichtet: dorsolateraler Präfrontalkortex, mediale Temporallappen, Hippocampus, parahippocampaler Gyrus, anteriorer cingulärer, medialer frontaler und posteriorer parietaler Kortex, Striatum, Thalamus und Cerebellum (Goldman-Rakic 1999, Ross et al. 2006). Aus den Ergebnissen der fMRT Studien ist ersichtlich, dass für jede defizitäre Testleistung, die bei einem Teil der schizophrenen Patienten vorliegt, nicht eine einzelne Gehirnregion, sondern vielmehr ein Netzwerk betroffener Gehirnregionen verantwortlich ist (Ross et al. 2006).

Als neurobiologische Korrelate, die den Defiziten des verbalen Gedächtnisses möglicherweise zugrunde liegen, werden unter anderem der mediale Temporallappen und der Frontallappen angesehen (Gur et al. 2007). Beide Gehirnregionen sind in verbale Gedächtnisprozesse

involviert und gleichzeitig bei einem Teil der schizophrenen Patienten beeinträchtigt (Weinberger 1999, Harrison 2004). Einige Studien fanden sowohl bei einem Teil der schizophrenen Patienten als auch bei einigen ihrer nichterkrankten biologischen Verwandten eine Reduktion der temporal kortikalen und hippocampalen Volumina (O'Driscoll et al. 2001, Narr et al. 2002, Seidman et al. 2002, van Erp et al. 2004). In zwei Studien waren bei nicht an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen schizophrener Patienten defizitär entwickelte verbale Gedächtnisleistungen mit kleineren Hippocampi assoziiert (O'Driscoll et al. 2001, Seidman et al. 2002).

Neben den bereits kurz dargestellten neurophysiologischen und neuroanatomischen Endophänotypen werden auch neuropsychologische intermediäre Phänotypen im Zusammenhang mit Schizophrenie diskutiert.

2.2.2 Neuropsychologische Endophänotypen

Kognitive Dysfunktionen, die zu beeinträchtigten Fähigkeiten und herabgesetztem Funktionsniveau führen, werden als eines der zentralen Merkmale der Schizophrenie angesehen (Antonova et al. 2004, Gold 2004, Bowie & Harvey 2005, Chan & Gottesman 2008). Mehrere Studien deuten jedoch darauf hin, dass 20-30% der Schizophreniepatienten in unterschiedlichen neuropsychologischen Tests Ergebnisse innerhalb des Normbereichs erzielen (Goldstein 1990, Heinrichs & Awad 1993, Palmer et al. 1997, Holthausen et al. 2002). Einige Autoren postulieren, dass sich die Schizophreniepatienten, die Ergebnisse im Normbereich erzielen, prämorbid auf einem höheren Level befunden hätten, und die späteren Leistungsniveaus durch Einbußen spezifischer kognitiver Fähigkeiten und/oder einer allgemeinen Verschlechterung der Leistungen entstanden seien (Kremen et al. 2000, Allen et al. 2003, Horan & Goldstein 2003, Kremen et al. 2004).

Während positive und negative Symptome der Schizophrenie schwanken können, wird angenommen, dass kognitive Beeinträchtigungen über die Zeit hinweg relativ stabil bleiben. Zudem sind kognitive Einbußen auch bei erstmals erkrankten Patienten messbar, die nie antipsychotische Medikamente erhalten hatten (Harvey et al. 2003). Auch konnten in mehreren Studien defizitär entwickelte Kognitionen bei biologischen Verwandten schizophrener Patienten gefunden werden (Delawalla et al. 2006, Snitz et al. 2006). Die Ergebnisse einer Studie deuten darauf hin, dass diese eruierten kognitiven Defizite spezifisch

für Angehörige schizophrener Patienten waren (Wolf et al. 2002). Dies ist als Hinweise darauf zu deuten, dass kognitive Defizite schizophrener Patienten möglicherweise unter spezifischem genetischem Einfluss stehen und daher als informative Endophänotypen bei der Suche nach genetischen Risikofaktoren der Schizophrenie dienen können (Ross et al. 2006).

Mit der Frage, welche kognitiven Bereiche bei Schizophreniepatienten beeinträchtigt sind, befassten sich mehrere Arbeitsgruppen und kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Beispielsweise postulierten Goldstein & Shemansky (1995), Heinrichs et al. (1997) und Goldstein et al. (1998) zwei Cluster kognitiver Beeinträchtigungen bei schizophrenen Patienten:

1. eine generelle Beeinträchtigung kognitiver Funktionen
2. eine Beeinträchtigung der Exekutivfunktionen, nicht jedoch der anderen kognitiven Funktionen

Andere Autoren (Weickert et al. 2000, Joyce et al. 2005) fanden drei Gruppen kognitiver Einschränkungen:

1. Abfall des IQ von einem höheren prämorbidem Level
2. niedriger prämobider IQ
3. spezifische Dysfunktion der Exekutivfunktionen

Eine Untersuchung, in welcher Patienten und Kontrollprobanden nach Alter, Schulbildung und Intelligenzquotient (IQ) gematched wurden, fand bei Patienten ein besseres verbales Verständnis und eine bessere Wahrnehmungsorganisation im Vergleich zu den Kontrollprobanden, die Informations-verarbeitungsgeschwindigkeit und das Arbeitsgedächtnis waren jedoch schlechter ausgebildet als bei den Kontrollprobanden (Wilk et al. 2005). Eine weitere Studie (Joyce et al. 2005) untersuchte erkrankte schizophrene Patienten, die nach Alter sowie derzeitigem und geschätztem prämorbidem Intelligenzquotienten mit Kontrollprobanden gematched wurden. Patienten unterschieden sich bezüglich der meisten kognitiven Fähigkeiten nicht von den Kontrollprobanden, jedoch zeigten sie Beeinträchtigungen des Arbeitsgedächtnisses (Joyce et al. 2005). Diese Befunde unterstützen die Annahme, dass Einschränkungen einzelner Kognitionen auch bei Patienten, deren intellektuelle Fähigkeiten scheinbar unbeeinträchtigt sind, vorliegen können (Joyce & Roiser 2007).

Interessant scheint auch die Frage nach dem Zusammenhang einzelner kognitiver Fähigkeiten, die bei Schizophreniepatienten beeinträchtigt sind. Bezüglich dieses Aspekts werden in der Literatur unterschiedliche Ansichten vertreten. Einige Autoren gehen von einer hierarchischen Struktur der einzelnen kognitiven Bereiche aus, wobei der Faktor allgemeine kognitive Fähigkeit einen Großteil der Varianz der neuropsychologischen Testergebnisse erklärt (Dickinson et al. 2004, 2006). Andere Autoren vertreten hingegen die Ansicht, dass es sich bei den kognitiven Dysfunktionen schizophrener Patienten um distinkte oder zumindest voneinander relativ unabhängige Domänen handle. Diese Annahme gründet auf Studienergebnissen, die charakteristische Beeinträchtigungsprofile bei Personen mit einer Schizophrenie fanden (Saykin et al. 1991, 1994, Heaton et al. 2001). Die vom National Institute of Mental Health (NIMH) geförderte Initiative Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia (MATRICS) (Nuechterlein et al. 2004, Buchanan et al. 2005) etablierte sieben faktorenanalytisch gewonnene kognitive Domänen, die bei schizophrenen Patienten beeinträchtigt sind und als voneinander relativ unabhängig postuliert wurden (Green et al. 2004, Nuechterlein et al. 2004, Buchanan et al. 2005):

1. Arbeitsgedächtnis
2. Aufmerksamkeit/Vigilanz
3. verbales Lernen und Gedächtnis
4. visuelles Lernen und Gedächtnis
5. Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit
6. schlussfolgerndes Denken und Problemlösung
7. soziale Kognition

Eine Vielzahl von Studien untersuchte diese kognitiven Domänen, die als Kandidaten für intermediäre Phänotypen gelten. Im Folgenden wird speziell auf den potentiellen neuropsychologischen Endophänotyp verbales Lernen und Gedächtnis eingegangen, der wie bereits dargestellt, bei Schizophreniepatienten häufig Beeinträchtigungen aufweist.

2.2.3 Verbales deklaratives Gedächtnis

2.2.3.1 Definition des Gedächtnisses

Unter Gedächtnis wird die Fähigkeit verstanden aufgenommene Information zu behalten, zu ordnen und wieder abzurufen. Die Unterteilung des Gedächtnisses kann nach unterschiedlichen Merkmalen erfolgen, weshalb viele verschiedene Gedächtnismodelle vorliegen. Häufig wird eine Einteilung nach zeitlichen oder inhaltlichen Kriterien vorgenommen.

Zeitliche Klassifikation verschiedener Gedächtnissysteme

Je nach Dauer der Informationsspeicherung wird zwischen dem sensorischen Gedächtnis (auch Ultrakurzzeitgedächtnis genannt), dem Arbeitsgedächtnis (auch Kurzzeitgedächtnis genannt) und dem Langzeitgedächtnis unterschieden (Markowitsch 2002). Im sensorischen Gedächtnis wird die Information für Millisekunden bis Sekunden gespeichert, im Arbeitsgedächtnis über Minuten und im Langzeitgedächtnis über Jahre. Im sensorischen Gedächtnis werden neue Informationen, die das Gehirn über die Sinnesorgane erreichen, zwischengespeichert, wobei steuerbare Prozesse von Bewusstsein und Aufmerksamkeit keine Rolle spielen. Dabei werden weitaus mehr Informationen aufgenommen als im Arbeitsgedächtnis, welches eine begrenzte Kapazität von 7 ± 2 Chunks (Informationseinheiten) hat (Miller 1956). Das Arbeitsgedächtnis steht im Zentrum der bewussten Informationsverarbeitung. Es ist ein Speicher, der eine kleine Menge von Informationen in einem aktiven, jederzeit verfügbaren Stadium behält. Zur langfristigen, dauerhaften Speicherung müssen Inhalte in das Langzeitgedächtnis überführt werden. Dazu ist das bewusste Abrufen von Informationen im Arbeitsgedächtnis unerlässlich. Es werden vier Prozesse des Langzeitgedächtnisses unterschieden (Markowitsch 2002):

- (1) Lernen/Enkodieren: Informationen werden neu eingespeichert
- (2) Konsolidierung/Behalten: Assoziationen zwischen neuem Material und bestehenden Gedächtnisinhalten werden stabilisiert
- (3) Erinnern/Abruf: Gedächtnisinhalte werden reproduziert bzw. rekonstruiert
- (4) Vergessen: Zerfall von Gedächtnisspuren oder Interferenzen durch konkurrierende Informationen

Inhaltliche Klassifikation verschiedener Gedächtnissysteme

Eine zweite Unterteilung des Gedächtnisses wird nach dem Inhalt vorgenommen. Hier wird beim Langzeitgedächtnis zwischen einem deklarativen (expliziten) und einem nicht-deklarativen (impliziten) Gedächtnis unterschieden (Squire 1998).

Zum deklarativen Gedächtnis gehören:

- (1) das episodische Gedächtnis, in dem autobiographische Ereignisse mit klarem Raum-, Zeit- und Situationsbezug gespeichert werden und
- (2) das semantische Gedächtnis, welches das Faktenwissen einer Person umfasst, wie beispielsweise Alltagskenntnisse, grammatikalische oder mathematische Zusammenhänge.

Die Inhalte des nicht-deklarativen Gedächtnisses beeinflussen das Verhalten ohne Einschaltung des Bewusstseins. Squire zufolge kann es in vier Bereiche aufgegliedert werden (Squire 1998):

- (1) das prozedurale Gedächtnis, welches motorische und kognitive Fertigkeiten beinhaltet, die automatisch eingesetzt werden, wie beispielsweise Gehen, Autofahren, Schwimmen oder Skifahren
- (2) das Priming (unbewusstes Wiedererinnern), welches ein leichteres Identifizieren oder Verarbeiten von Objekten infolge einer vorangegangenen Wahrnehmung derselben darstellt
- (3) die klassische Konditionierung, welche Reaktionen z.B. des Skelettmuskels hervorruft und mit dem emotionsgebundenen Lernen verknüpft ist
- (4) das nicht-assoziative Lernen, welches den Vorgang der Habituation und der Sensitivierung einschließt.

2.2.3.2 Verbales deklaratives Gedächtnis bei schizophrenen Patienten

Obwohl ein Teil schizophrener Patienten in einem weiten Spektrum neurokognitiver Domänen Defizite aufweist, scheinen die Beeinträchtigungen in den Bereichen verbales Lernen und Gedächtnis besonders stark ausgeprägt zu sein. Während allgemeine

Testleistungen Schizophrener im Durchschnitt zwischen 1.5 und 2 Standardabweichungen unter den Leistungen gesunder Kontrollprobanden liegen (Bilder et al. 1995), wurden für den Bereich verbales Lernen und Gedächtnis Unterschiede von bis zu 3 Standardabweichungen berichtet (Saykin et al. 1991, 1994, Aleman et al. 1999). Auch biologische Verwandte schizophrener Patienten, die selbst keine Schizophrenie oder verwandte psychiatrische Erkrankungen aufweisen, zeigen Beeinträchtigungen in diesem Bereich (Cirillo & Seidman 2003, Sitskoorn et al. 2004, Snitz et al. 2006, van Erp et al. 2008). Ein Überblick über mehr als 110 Studien liefert Hinweise dafür, dass Defizite im Bereich verbales Gedächtnis zu den konsistentesten Befunden zählen (Cirillo & Seidman 2003). Dysfunktionen sind in mehreren Bereichen wie beispielsweise dem Enkodieren, dem Speichern und dem Abrufen von Informationen feststellbar (Gold et al. 1992, Beatty et al. 1993). Signifikant abnorme Vergessensraten scheinen seltener aufzutreten (Cirillo & Seidman 2003) und sind bislang nur in einer Subgruppe von schizophrenen Patienten beobachtet worden (Paulsen et al. 1995). Bei einem Teil der schizophrenen Patienten wurden ausgeprägte Defizite beispielsweise im Bereich des Enkodierens neuer Informationen und bei der freien Wiedergabe gelernter Information gefunden. Im Vergleich dazu bessere Leistungen werden für die gestützte Wiedergabe (Hinweis- oder Wiedererkennungs-Bedingungen) von Informationen berichtet (Paulsen et al. 1995, Brébion et al. 1997, Weiss & Heckers 2001, Cirillo & Seidman 2003).

Um zu überprüfen, ob die von Gottesman & Gould (2003) geforderten Kriterien für geeignete Endophänotypen (siehe Abschnitt 2.2.1) erfüllt sind, wurden einige Kennwerte vorgeschlagen (Gur et al. 2007), die nachfolgend in Bezug auf das verbale Gedächtnis dargestellt und diskutiert werden.

Die erste Forderung betrifft die Assoziation des Endophänotypen mit der Erkrankung. Bei einem Teil der schizophrenen Patienten und deren klinisch gesunden Verwandten wurden Defizite im Bereich des verbalen Gedächtnisses beschrieben (Saykin et al. 1991, 1994, Aleman et al. 1999, Cirillo & Seidman 2003, Sitskoorn et al. 2004, Snitz et al. 2006, van Erp et al. 2008), obschon solche Defizite nicht spezifisch für Schizophreniepatienten sind.

Das zweite Kriterium von Gottesman & Gould (2003) betrifft die Erblichkeit des Endophänotypen. Die Heritabilität des verbalen Gedächtnisses wurde in mehreren Studien sowohl bei Gesunden als auch bei an Schizophrenie erkrankten Patienten untersucht. In einer Übersichtsarbeit (Bouchard 1998) wird für das Gedächtnis eine moderate Heritabilität (um

0.50) berichtet. In einer Stichprobe gesunder Zwillinge unterschiedlichen Alters wurden für das verbale Gedächtnis (erfasst mit dem Untertest *Logisches Gedächtnis* der Wechsler Memory Scale) Heritabilitäten zwischen 0.47 für junge und 0.63 für Erwachsene mittleren Alters geschätzt (Finkel et al. 1995). Für schizophrene Patienten und deren Erstgradangehörige wurde die Heritabilität der verbalen Leistungen auf 0.62 geschätzt, wobei die Effektstärken der unterschiedlichen verwendeten Tests variierten (Tuulio-Henriksson et al. 2002). Daher sind weitere Studien notwendig, bevor Schlussfolgerungen bezüglich der Erbllichkeit von Defiziten des verbalen Gedächtnisses gezogen werden können (Gur et al. 2007).

Die dritte Forderung betrifft die Stabilität des Endophänotypen, welche mit Hilfe von unterschiedlichen Kennwerten abgebildet werden kann. Hierzu zählt beispielsweise eine adäquate Test-Retest-Reliabilität. Für den Untertest *Logisches Gedächtnis* der Wechsler Memory Scale, Revised (WMS-R) einem Test zur Erfassung des verbalen Gedächtnisses, werden sowohl für die sofortige freie Wiedergabe als auch für die verzögerte freie Wiedergabe Reliabilitätskoeffizienten von 0.79 berichtet (Härting et al. 2000). Bislang wurden nur wenige Studien publiziert, in denen die Stabilität der Defizite des verbalen Gedächtnisses bei schizophrenen Patienten untersucht wurde. Harvey et al. (2005) berichten für eine Stichprobe schizophrener und schizoaffektiver Patienten mittleren und höheren Alters moderate Test-Retest-Koeffizienten (0.64 bzw. 0.62) für den „word list learning test“ bei einem Test-Retest-Intervall von acht Wochen. In einer 4-Jahre Follow-up-Studie wurde die Stabilität der Defizite des verbalen Gedächtnisses bei erwachsenen, nicht an Schizophrenie leidenden Erstgradangehörigen schizophrener Patienten untersucht. Dabei erwies sich ein lückenhaft ausgebildetes verbales Gedächtnis (erfasst durch den Untertest *Logisches Gedächtnis* der WMS-R) als einer der besten Indikatoren für kognitive Beeinträchtigungen bei den Angehörigen (Faraone et al. 1999).

Einen weiteren Kennwert der zeitlichen Stabilität des Endophänotypen stellt die Unabhängigkeit des intermediären Phänotypen von der Medikation dar. Zur Überprüfung dieser Annahme stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen wird untersucht, inwieweit eine Medikamenteneinnahme zu Defiziten des verbalen Gedächtnisses führt. Beispielsweise wurden die anticholinergen Effekte antipsychotischer Medikation lange Zeit mit einem beeinträchtigten deklarativen Gedächtnis in Verbindung gebracht. Neuere Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass die medikamentösen Effekte nicht für das Ausmaß dieser Defizite verantwortlich sind (Brébion et al. 2004). Darüber hinaus wurden

auch bei nichtmedizierten Patienten vor und während der ersten psychotischen Episode Defizite im Bereich des verbalen Gedächtnisses beobachtet (Saykin et al. 1994, Joyce 2005). Eine weitere Möglichkeit festzustellen, ob Gedächtnisdefizite zeitstabil sind, ist die Untersuchung der Beeinflussbarkeit dieser Defizite durch eine antipsychotische Behandlung. Eine Vielzahl von Studien weist auf eine Verbesserung des Langzeitgedächtnisses nach Gabe von Atypika hin (Keefe et al. 2006, Thornton et al. 2006). Das Ausmaß dieser Verbesserung ist jedoch insgesamt eher mäßig, die Effektstärken liegen unter 0.5, was wesentlich geringer ist, als die allgemein beobachteten Defizite (1.0-1.5) in diesem Bereich (Heinrichs & Zakzanis 1998, van Amelsvoort et al. 2004, Heinrichs 2005). Zusammenfassend kann also festgehalten werden, dass Defizite im Bereich des verbalen Gedächtnisses relativ unabhängig von positiven und negativen Effekten neuroleptischer Medikation auftreten.

Kennzeichen der zeitlichen Stabilität eines intermediären Phänotypen ist auch dessen Unabhängigkeit von der Akuität der Erkrankung. Belege hierfür stammen aus Studien, die ein defizitäres verbales Gedächtnis schizophrener Patienten unabhängig vom Krankheitsstatus berichten. Diese Defizite konnten auch vor dem Erkrankungsbeginn, während der ersten akuten Krankheitsepisode und nach der Remission der psychotischen Symptome beobachtet werden (Cirillo & Seidman 2003, Joyce 2005).

Die Cosegregation des Endophänotypen und der Erkrankung innerhalb von Familien stellt das vierte Kriterium von Gottesman & Gould (2003) dar. Obwohl Studien zur Cosegregation des verbalen Gedächtnisses und der Schizophrenie bislang noch weitgehend fehlen, gibt es einige Befunde, die in diesem Zusammenhang relevant sind. Beispielsweise konnte in einer Zwillingsstudie, in der für Schizophrenie diskordante Zwillingspaare untersucht wurden, gezeigt werden, dass beim nicht an Schizophrenie leidenden Zwillingspartner Defizite im Bereich des verbalen Gedächtnisses gemeinsam mit Symptomen einer schizotypischen Persönlichkeitsstörung auftraten, wohingegen Personen mit schizotypischen Symptomen, jedoch ohne an Schizophrenie erkrankte Personen in der Familie, keine derartigen Defizite aufwiesen (Johnson et al. 2003). In einer weiteren Untersuchung zeigten Personen, die zwei an Schizophrenie erkrankte Erstgradangehörige hatten, größere Defizite im Bereich des verbalen Gedächtnisses als Personen, die nur einen Erstgradangehörigen hatten, der an Schizophrenie litt (Faraone et al. 2000). Es gibt Hinweise dafür, dass innerhalb von Familien ein Ansteigen der Gedächtnisdefizite mit einer verstärkten Anhäufung schizophrener und schizophrenieartiger Symptome einhergeht (Gur et al. 2007).

Das fünfte Kriterium von Gottesman & Gould (2003) bezieht sich auf die Assoziation des Endophänotypen mit dem genetisch vermittelten Krankheitsrisiko, d. h. es sollten bezüglich der messbaren Defizite Häufigkeitsunterschiede zwischen biologischen Angehörigen der Erkrankten und Kontrollprobanden feststellbar sein. Hinweise hierauf liefern Studienergebnisse aus Vergleichen der Leistungen nicht an Schizophrenie leidender, adoleszenter und erwachsener biologischer Angehöriger schizophrener Patienten mit gesunden Kontrollprobanden. Bei den Angehörigen sind schlechtere Leistungen in Tests des verbalen Gedächtnisses beobachtbar, wobei sich diese Defizite vor allem auf den Bereich des Enkodierens, weniger auf die Vergessensrate, beziehen (Cannon et al. 1994, Faraone et al. 1995, 1999, 2000, Cirillo & Seidman 2003, Seidman et al. 2006).

Sind die von Gottesman & Gould (2003) geforderten Kriterien für geeignete Endophänotypen erfüllt, bietet das Konzept der intermediären Phänotypen eine Möglichkeit neurobiologische Korrelate einer komplexen Erkrankung wie der Schizophrenie jenseits nosologischer Einheiten zu untersuchen. Es wird angenommen, dass die genetische Basis dieser Endophänotypen leichter zu ergründen ist, als diejenige des klinischen Phänotyps Schizophrenie. Die Hypothese dabei ist, dass die genetischen Varianten, für die ein Zusammenhang zum intermediären Phänotypen nachgewiesen wurde, auch eine Assoziation zur Erkrankung aufweisen. Es wird angenommen, dass intermediäre Phänotypen wie beispielsweise das verbale Gedächtnis von mehreren Genen beeinflusst werden, ebenso wird eine Vielzahl von Genen als mögliche Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie diskutiert.

Eines dieser Kandidatengene für Schizophrenie ist das RGS4-Gen, welches auf Chromosom 1q23.3 lokalisiert ist. 2001 wurde das RGS4-Gen erstmals in Zusammenhang mit Schizophrenie erwähnt. In einer Microarray Untersuchung wurde eine signifikante Reduktion von RGS4 mRNA im dorsolateralen Präfrontalkortex, sowie im motorischen und visuellen Cortex schizophrener Patienten gefunden (Mirnics et al. 2001). Auch die räumliche Nähe des RGS4-Gens zum chromosomalen Locus 1q21-22, welcher mit Schizophrenie gekoppelt zu sein scheint (Brzustowicz et al. 2000), deutet darauf hin, dass RGS4 ein mögliches Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie sein könnte. Weiterhin erscheint dieses Gen im Zusammenhang mit Schizophrenie interessant, da RGS4-Proteine die Signaltransduktion spezifischer Neurotransmittersysteme regulieren, welche für die Pathophysiologie und Behandlung der Schizophrenie relevant sind. Zahlreiche Assoziationsstudien, die den

Zusammenhang des RGS4-Gens und Schizophrenie – aber auch intermediäre Phänotypen untersuchten, wurden in den letzten Jahren veröffentlicht.

2.3 Regulator of G-Protein Signaling 4 (RGS4)

2.3.1 G-Protein gekoppelte Rezeptoren und ihre Signaltransduktion

Die Familie der an heterotrimere guaninnukleotid-bindende Proteine (G-Proteine) gekoppelten Rezeptoren (GPCR) stellt eine der am häufigsten vorkommenden Gruppe von Rezeptoren dar (Lander et al. 2001). Bislang konnten ca. 800 GPCRs identifiziert werden. Nicht nur Neurotransmitter wie Acetylcholin, Adrenalin und Noradrenalin wirken über GPCRs, auch Dopamin, Serotonin und Glutamat benutzen diesen Signalweg, um durch extrazelluläre Signale eine intrazelluläre Antwort hervorzurufen. Dies macht deutlich, warum diese Gruppe von Rezeptoren den Angriffspunkt für etwa 60% aller eingesetzten Pharmaka darstellt (Pierce et al. 2002). Auch bei dem Transport von Substanzen durch die Zellmembran, der Proliferation sowie der Gentranskription spielen GPCRs eine wichtige Rolle (Bansal et al. 2007). Die Klassifikation der GPCRs erfolgte zunächst nach funktionellen Merkmalen, wobei fünf Gruppen (A-E) unterschieden wurden (Attwood & Findlay 1994, Kolakowski 1994). Fredriksson et al. schlugen eine neue, auf phylogenetischen Untersuchungen basierende, Klassifizierung der humanen GPCRs vor, wonach die Rezeptoren in fünf Hauptgruppen unterteilt werden: Glutamat-, Rhodopsin-, Adhäsions-, Frizzled/Taste2- und Secretin-Gruppe (Fredriksson et al. 2003). GPCRs gehören zur Familie der heptahelikalen Transmembranproteine. Die sieben transmembranären Helixstrukturen sind durch drei intrazelluläre und drei extrazelluläre Schleifen miteinander verbunden. Die Bindung eines Liganden außerhalb der Zelle führt zu einer Konformationsänderung des Rezeptors, wodurch intrazellulär durch Aktivierung eines G-Proteins eine spezifische Signalkaskade ausgelöst wird.

Die G-Proteine sind beteiligt an der Übermittlung von Signalen in das Zellinnere, wobei verschiedene Proteine als Effektoren wirken. Zur Familie der G-Proteine gehören die heterotrimeren G-Proteine, die monomeren G-Proteine sowie einige Translationsfaktoren. Heterotrimere G-Proteine sind membrangebunden und bestehen aus drei Untereinheiten: $G\alpha$, $G\beta$ und $G\gamma$. Die $G\alpha$ -Untereinheit besteht aus zwei Domänen: Einer GTPase-Domäne mit drei

so genannten Switch Regionen, die an der Bindung und Spaltung von Guanosintriphosphat (GTP) beteiligt sind und einer helikalen Domäne, die das GTP in das Zentrum des Proteins transportiert. Die $G\beta$ -Untereinheit bildet mit der $G\gamma$ -Untereinheit einen fest assoziierten Komplex. Alle drei Untereinheiten zeigen eine große Diversität. Bekannt sind 16 verschiedene Gene, die für die $G\alpha$ -Untereinheiten, fünf Gene, die für die $G\beta$ -Untereinheiten und zwölf Gene, die für die $G\gamma$ -Untereinheiten kodieren (Downes & Gautam 1999).

Aufgrund der Strukturhomologie auf Aminosäureebene und der Funktionshomologie werden vier verschiedene Familien von $G\alpha$ -Untereinheiten unterschieden: $G\alpha_s$, $G\alpha_{i/o}$, $G\alpha_q$ $G\alpha_{12/13}$. $G\alpha_s$ -Proteine stimulieren unter anderem die Adenylylcyclase, wodurch die zelluläre Konzentration des cyclischen Adenosinmonophosphats (cAMP) erhöht wird. $G\alpha_{i/o}$ -Proteine inhibieren die Adenylylcyclase und spannungsregulierte Calciumkanäle. $G\alpha_q$ -Proteine aktivieren die Phospholipase C wodurch die second messenger Inositoltrisphosphat und Diacylglycerin gebildet werden. $G\alpha_{12/13}$ -Proteine aktivieren unter anderem das RhoA-Signal und einige Phospholipase-Subtypen. $G\beta\gamma$ -Dimere aktivieren Phospholipasen und Ionenkanäle (Watts & Neve 2005, Luttrell 2006, Birnbaumer 2007).

Die heterotrimeren G-Proteine durchlaufen einen zyklischen Übergang zwischen einer inaktiven GDP (Guanosindiphosphat)-gebundenen und einer aktiven GTP-gebundenen Form (Abbildung 4). Die Bindung eines Liganden an den GPCR führt zu einer Konformationsänderung der transmembranen Domäne des Rezeptors, was einen Austausch von GDP gegen GTP an der $G\alpha$ -Untereinheit bewirkt. Hierdurch kommt es zur Dissoziation des $G\beta\gamma$ -Dimers von der $G\alpha$ -Untereinheit, woraus die Aktivierung von Effektorproteinen resultiert. Das Signal wird durch die Hydrolyse von GTP zu GDP durch die intrinsische GTPase-Aktivität der $G\alpha$ -Untereinheit beendet, was eine Reassoziierung der beiden Untereinheiten zur Folge hat.

Eine wesentliche Funktion der RGS-Proteine ist die Beendigung von G-Protein stimulierten Signalen (Abbildung 4). RGS-Proteine sind GTPase beschleunigende Proteine. Sie interagieren mit den $G\alpha$ -Untereinheiten der G-Proteine und steigern die Hydrolyse von GTP, wodurch die Inaktivierung der G-Proteine um ein bis zu Tausendfaches beschleunigt wird (Berman et al. 1996, Watson et al. 1996, Huang et al. 1997, De Vries et al. 2000).

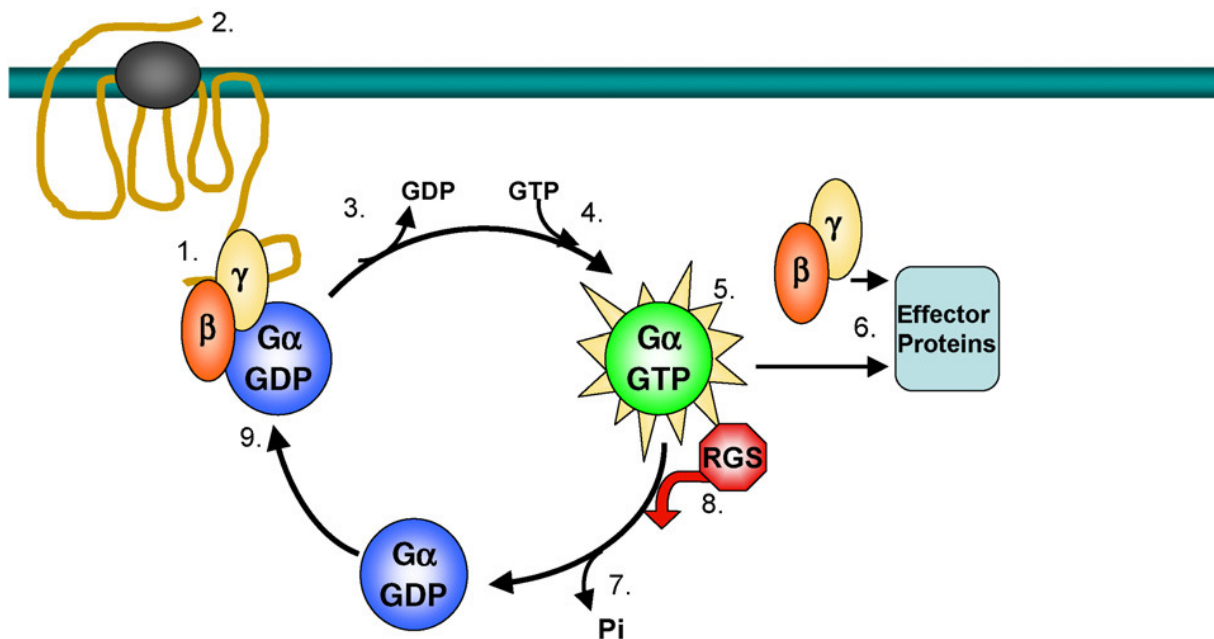


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Funktionszyklus der heterotrimeren G-Proteine.

Im Ruhezustand bilden die Untereinheiten ein inaktives Heterotrimer, wobei GDP an die $G\alpha$ -Untereinheit gebunden ist (1). Die Bindung eines Agonisten führt zu einer Konformationsänderung der transmembranen Domäne des Rezeptors (2). Diese Konformationsänderung führt zu einer Dissoziation des GDP von der $G\alpha$ -Untereinheit (3). Nach der Abspaltung des GDP bindet GTP, welches im Cytosol in viel höherer Konzentration vorliegt als GDP, an die $G\alpha$ -Untereinheit. Das führt zu einer Konformationsänderung der drei Switch Regionen der $G\alpha$ -Untereinheit (4). Aufgrund dieser strukturellen Änderung kommt es zur Dissoziation des $G\beta\gamma$ -Dimers von der $G\alpha$ -Untereinheit (5). Diese Aufspaltung enthüllt die aktiven Bindungsstellen der $G\alpha$ - und der $G\beta\gamma$ -Untereinheit, wodurch es zur Aktivierung von Effektorproteinen kommt, welche die neuronale Aktivität regulieren (6). Durch die intrinsische GTPase-Aktivität der $G\alpha$ -Untereinheit wird GTP zu GDP hydrolysiert, wodurch die inaktive GDP gebundene $G\alpha$ -Untereinheit entsteht (7). Diese langsame, intrinsische GTPase-Aktivität der $G\alpha$ -Untereinheit wird durch RGS Proteine stark beschleunigt (8). Die inaktive GDP gebundene $G\alpha$ -Untereinheit reassoziert mit dem $G\beta\gamma$ -Dimer und kehrt in den Ruhezustand zurück (9) (Hooks et al. 2008).

2.3.2 Die Familie der RGS-Proteine

Proteine der Familie Regulator of G-protein signaling (RGS) sind eine Klasse von Proteinen, die erst in den 1990er Jahren von unterschiedlichen Arbeitsgruppen entdeckt wurden (Siderovski et al. 1994, De Vries et al. 1995, Koelle & Horvitz 1996, Druey et al. 1996). RGS-Proteine bilden eine funktionell und strukturell diversifizierte Superfamilie von Proteinen mit etwa 40 unterschiedlichen Genprodukten (Ross & Wilkie 2000, Willars 2006). Alle RGS-Proteine bestehen aus einer RGS-Domäne von etwa 125 Aminosäuren (Abbildung 5), die für die Bindung an $G\alpha_i$ und $G\alpha_q$ zuständig ist (Tesmer et al. 1997). Viele RGS-Proteine

besitzen neben der RGS-Domäne zusätzliche funktionelle Domänen (Abbildung 5), aufgrund derer sie in verschiedene Subfamilien eingeteilt werden (Abramow-Newerly et al. 2006, Bansal et al. 2007, Hooks et al. 2008).

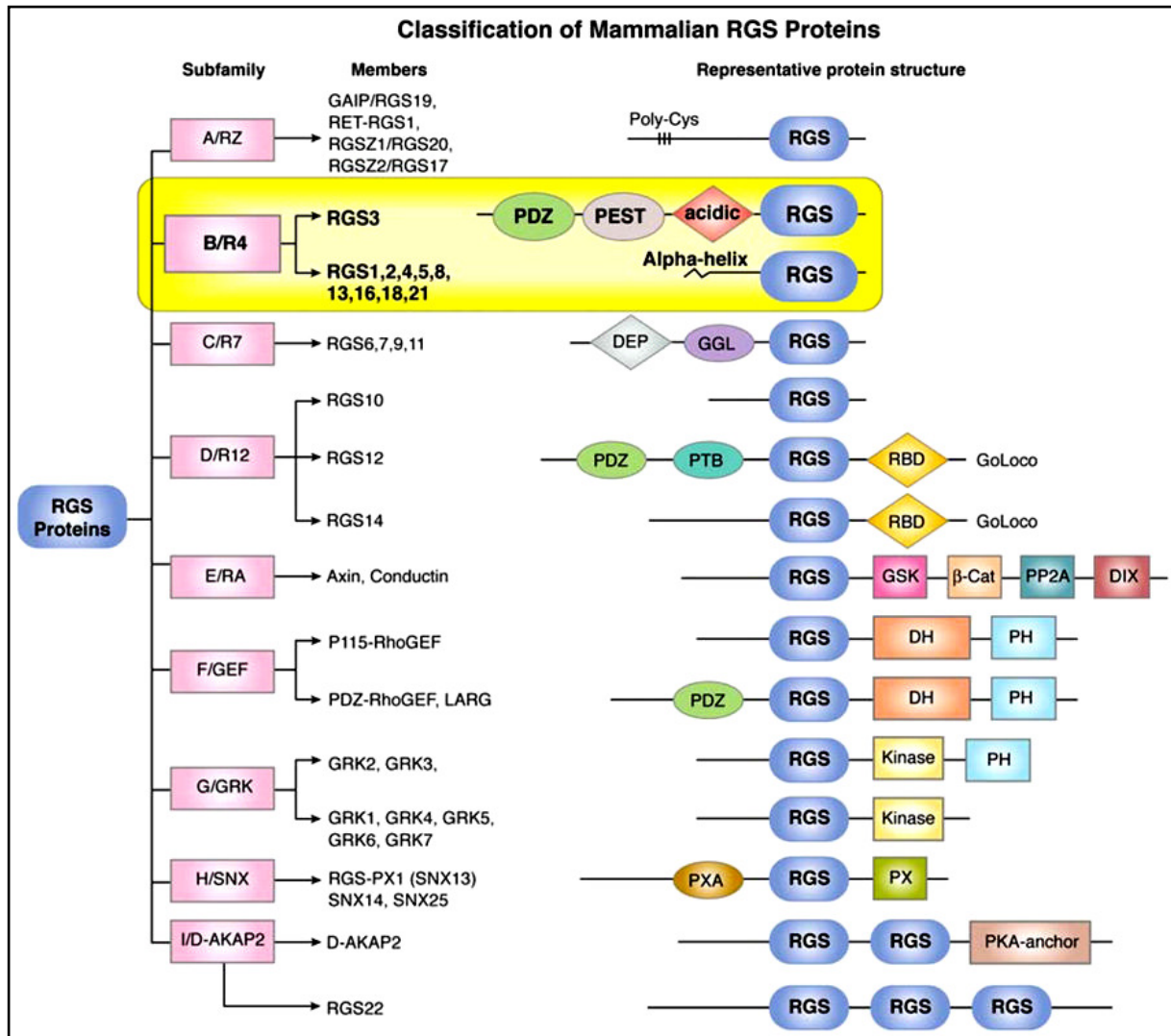


Abbildung 5: Klassifikation der RGS-Proteine in unterschiedliche Subfamilien und ihre repräsentativen Proteinstrukturen mit identifizierten Domänen. Die jeweilige Subfamilie ist in den pinkfarbenen Boxen in der linken Hälfte eingetragen, rechts daneben sind die Familienmitglieder aufgelistet. Auf der rechten Seite der Abbildung sind die jeweiligen RGS-Domänen (blau) sowie die sie flankierenden funktionellen Gruppen dargestellt (Bansal et al. 2007)

Mitglieder der R4/B Subfamilie, wozu RGS1, RGS2, RGS3, RGS4, RGS5, RGS8, RGS13, RGS16, RGS18 und RGS21 gehören, sind die kleinsten RGS-Proteine, die – mit Ausnahme von RGS3 – nur eine kurze Peptidsequenz besitzen, welche die RGS-Domäne flankiert (Abbildung 5). Diese Proteine binden anscheinend an eine Vielzahl zellulärer Signalfaktoren – sowohl in GPCR als auch in nicht GPCR Pathways (Bansal et al. 2007).

RGS-Proteine sind $G\alpha$ -Untereinheit- und Rezeptorspezifisch. Sie werden ubiquitär exprimiert, häufig jedoch in einem zeitlich und räumlich eingeschränkten Muster. Ein wesentlicher Anteil der RGS-Genexpression findet im Gehirn statt. Hier liegt eine große Diversität neuronaler und glialer GPCRs vor, wodurch die Signalmodulation in diesem Bereich eine große Rolle spielt (Gold et al. 1997, Hollinger & Hepler 2002).

RGS-Proteine agieren als negative Regulatoren der GPCR Signalübertragung, indem sie die Dauer der intrazellulären Signaltransduktion durch Beschleunigung der GTP Hydrolyse verkürzen. Ein zweiter, von der GTP Hydrolyse unabhängiger Mechanismus, führt ebenfalls zu einer verminderten intrazellulären Signaltransduktion: RGS-Proteine agieren als Antagonisten der Effektormoleküle, indem sie an die G-Protein-Effektorregionen binden (Hepler et al. 1997, Scheschonka et al. 2000). Einige RGS-Proteine (Mitglieder der R12 Familie) fungieren auch als Guaninnukleotid-Dissoziations-Inhibitoren (GDIs), welche die Austauschrate von GDP zu GTP herabsetzen und somit die Funktion von G-Proteinen inhibieren (Kimple et al. 2001).

2.3.3 RGS4

Das RGS4-Gen wurde erstmals 1996 aus menschlichem Gewebe gewonnen (Druey et al. 1996). Es ist auf Chromosom 1q23.3 lokalisiert, enthält fünf Exons und umspannt 5.5 Kilobasen (kb) (Sierra et al. 2002).

RGS4-Proteine kommen im ganzen Körper vor. Von allen 19 humanen RGS-Transkripten ist das RGS4-Transkript am stärksten im Gehirn angereichert (Larminie et al. 2004). RGS4 wird im Neokortex, dem Striatum und dem Hippocampus stark exprimiert (Gold et al. 1997, Ingi & Aoki 2002, Erdely et al. 2004, Larminie et al. 2004), während die Expressionsraten im Thalamus und den Basalganglien wesentlich geringer sind (Erdely et al. 2004).

Isoformen von RGS4

Im präfrontalen und visuellen Kortex des Menschen konnten Ding et al. fünf unterschiedliche Spleißvarianten identifizieren: RGS4-1, RGS4-2, RGS4-3, RGS4-4 und RGS4-5, wovon bis dahin lediglich die Isoform RGS4-1 bekannt war (Ding et al. 2007). Wie aus Abbildung 6

erkennbar, enthalten Isoform 1, 2 und 5 jeweils fünf Exons, Isoform 3 hingegen sechs und Isoform 4 vier Exons. Auch das 3'-Ende und 5'-Ende der Transkripte variiert bei den einzelnen Spleißvarianten (Abbildung 6). Das humane RGS4-Gen besitzt vier unterschiedliche Transkriptionsstartpunkte in unterschiedlichen Exons. Ding et al. (2007) schlussfolgerten daher, dass die Transkription des RGS4-Gens von vier verschiedenen Promotoren reguliert werden kann, deren Existenz jedoch noch nachgewiesen werden muss. Ihre Daten weisen darauf hin, dass die Expression von RGS4-5 von einem Promotor reguliert werden könnte, der sich im zweiten Intron des RGS4-Gens befindet (Ding et al. 2007).

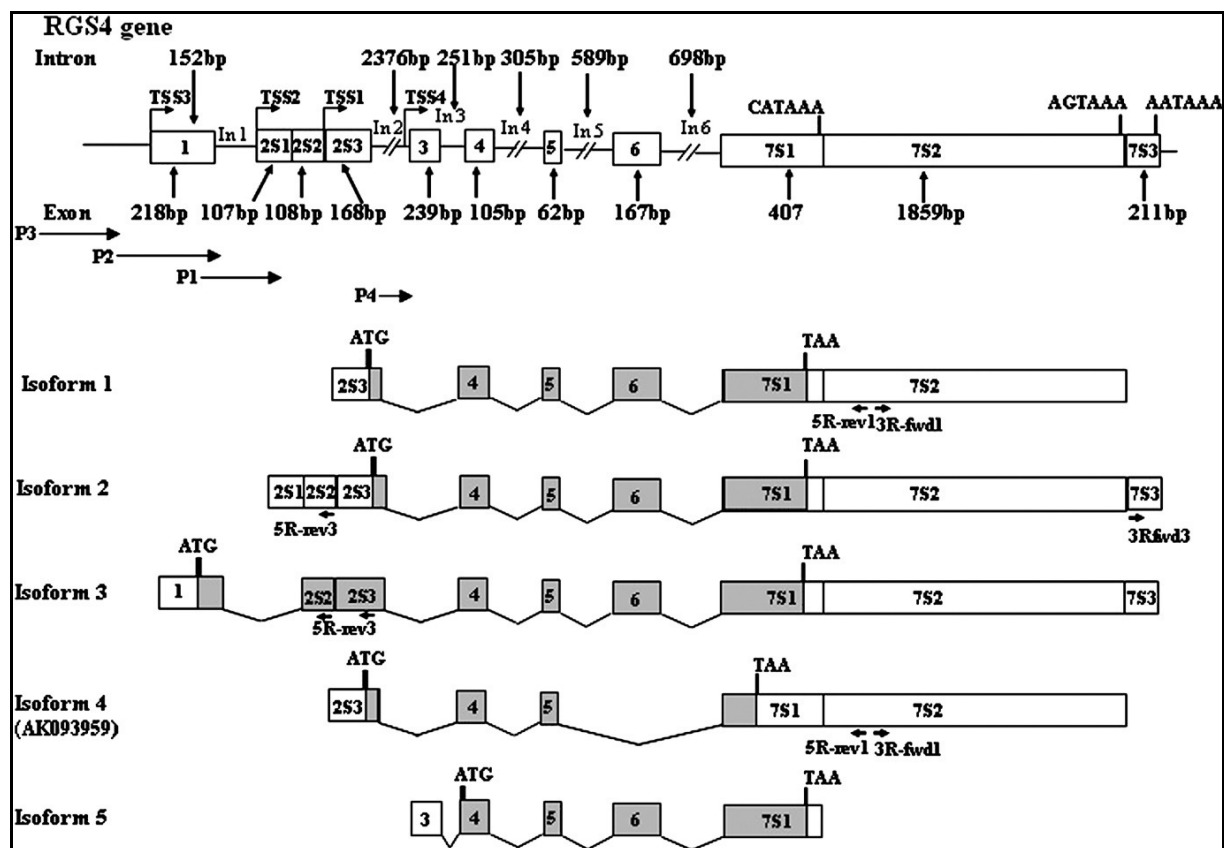


Abbildung 6: Schematische Darstellung der fünf unterschiedlichen Spleißvarianten sowie der Größe der Exons und Introns des humanen RGS4-Gens. Die offenen Leseraster (ORFs) sind grau markiert. Der rechte Pfeil repräsentiert den Transkriptionsstartpunkt (TSS1, TSS2 und TSS3). Wenn die Exons teilweise im Transkript der Isoformen enthalten sind, sind die Sequenzsegmente der Exons mit S1, S2, S3, etc. gekennzeichnet.

Ein großer physiologischer Vorteil alternativer Promotoren ist die Fähigkeit zur differenziellen Transkription als Reaktion auf unterschiedliche externe Stimuli. Alternative Promotoren sind oft für eine zeitabhängige, entwicklungsspezifische oder gewebsspezifische Genregulation verantwortlich. Die Ergebnisse der Studie von Ding et al. (2007) weisen auf

eine sowohl qualitative als auch quantitative, gewebspezifische Expression der fünf Isoformen des RGS4-Gens hin.

RGS4-1 und RGS4-2 differieren zwar bezüglich ihres ersten Exons, kodieren jedoch das gleiche aus 205 Aminosäuren (AS) bestehende Protein. RGS4-3 kodiert für ein potentiell bislang nicht bekanntes 302 AS Protein mit einer 97 AS langen N-terminalen Erweiterung. RGS4-4 enkodiert ein Peptid aus 93 AS, dem der Großteil der RGS-Domäne fehlt. Obwohl die Funktion einer solchen verkürzten Isoform schwer einzuschätzen ist, spekulieren Ding et al. (2007), dass dieses Protein einen negativen Effekt auf anderen RGS4-Isoformen haben könnte. RGS4-5 kodiert ein Protein von 187 AS Länge, dem verglichen mit dem RGS4-1 Protein 18 N-terminale AS fehlen. Da die N-terminalen Regionen der RGS4-Proteine mit den G-Proteinen interagieren, ist es denkbar, dass RGS4-5 mit anderen $G\alpha$ -Untereinheiten interagiert als $G\alpha_q$ und $G\alpha_{i/o}$ (Ding et al. 2007).

Alle fünf RGS4 Spleißvarianten werden in kortikalen Arealen stark exprimiert, obwohl die RGS4-Isoformen 1, 2 und 3 im Cerebellum nicht exprimiert werden. Sowohl im dorsolateral-präfrontalen als auch im visuellen Kortex sind RGS4-1 und RGS4-4 am stärksten, RGS4-5 am wenigsten exprimiert. Darüber hinaus sind die humanen Isoformen in den beiden untersuchten Kortexarealen differenziert exprimiert. Von allen Isoformen zeigt RGS4-1 die höchste Expressionsrate im dorsolateralen Präfrontalkortex. RGS4-2 ist gewebespezifisch, während RGS4-4 und RGS4-5 ubiquitär exprimiert zu sein scheinen (Ding et al. 2007).

Die Mechanismen, die die RGS4-Expression regulieren, sind bislang nicht genau bekannt. Es wurden jedoch mehrere externe Faktoren berichtet, die einen Einfluss auf den RGS4 mRNA-Level haben. Beispielsweise reduziert cAMP den RGS4 mRNA-Level (Pepperl et al. 1998), während Opioidrezeptor-Agonisten und Kindling zu einem Anstieg des Levels führen (Liang & Seyfried 2001). Unter chronischem Stress zeigt RGS4 robuste transkriptionelle Veränderungen mit einer Hochregulierung der mRNA-Expression (Ni et al. 1999). Psychostimulanzien und Opiate scheinen einen verschiedenartigen Einfluss auf die RGS4 mRNA-Expression in unterschiedlichen Hirnregionen zu haben. Während eine akute Morphin- oder Amphetamingabe zu einer Reduktion der RGS4-Expression im Locus coeruleus führt, wird die RGS4-Expression im Nucleus accumbens von diesen Substanzen hochreguliert (Bishop et al. 2002). Interessanterweise führt eine wiederholte Morphingabe zu einer Steigerung der RGS4-Transkription im Locus coeruleus (Gold et al. 2003). Es wird

angenommen, dass der RGS4-Transkriptionslevel von Dopamin-D₁- und D₂-Rezeptoragonisten reguliert wird. Beispielsweise wird die Transkription des RGS4-Gens im Striatum durch die Applikation von D₂-Agonisten oder der Blockade von D₁-Rezeptoren induziert (Hooks et al. 2008). D₁- und D₅-Dopaminrezeptoren sind mit der G α_s -Aktivität verknüpft, während D₂-ähnliche Rezeptoren (D₂, D₃, D₄) wahrscheinlich primär über G $\alpha_{i/o}$ -Proteine wirken (Sibley et al. 1993, Bergson et al. 1995). Durch Amphetamine kommt es beispielsweise zur Herunterregulation von RGS4 mRNA im Caudate-Putamen und dem frontalen Kortex. Diese Reduktion von RGS4 mRNA führt möglicherweise zur Steigerung des G α_i /G α_q Signals, um der Stimulation von G α_s durch D₁-Dopaminrezeptoren entgegenzuwirken (Schwendt et al. 2006).

An vielen RGS-Proteinen wurden auch Mechanismen der posttranslationalen Prozessierung beobachtet (Hooks et al. 2008). Beispielsweise wird die Funktion von RGS-Proteinen auch durch den Proteinabbau und die damit verbundene veränderte Proteinkonzentration in einer Zelle reguliert. Destabilisierende Aminosäuren am N-terminalen Ende der RGS4-Proteine triggern beispielsweise die Arginylierung und begünstigen die anschließende Ubiquitinierung, wodurch der Proteinabbau im Proteasom gefördert wird (Davydov & Varshavsky 2000, Lee et al. 2005, Bodenstein et al. 2007).

2.3.4 RGS4 und Schizophrenie

RGS4-Proteine beeinflussen über die Regulation der Aktivität der G α -Untereinheiten die zeitliche Koordination und die Dauer der G-Protein gekoppelten Signaltransduktion, wobei ihre Funktion selektiv auf bestimmte Neurotransmittersysteme abgestellt zu sein scheint (Abramow-Newerly et al. 2006). Einige dieser Transmittersysteme spielen bei der Pathogenese und der Behandlung der Schizophrenie eine wichtige Rolle wie beispielsweise das dopaminerge (Yan et al. 1997, Ghavami et al. 2004), das serotonerge (Beyer et al. 2004, Ghavami et al. 2004) und das glutamaterge System (Saugstad et al. 1998, De Blasi et al. 2001).

Ein weiterer Befund, der das RGS4-Gen als attraktives Kandidatengen für Schizophrenie erscheinen lässt, ist die Interaktion der RGS4-Proteine mit dem ErbB3-Rezeptor, der Neuregulin 1 (NRG1) bindet. Da eine unterbrochene Neurotransmission zwischen Neuregulin

und den ErbB-Rezeptoren aufgrund einer daraus resultierenden veränderten Dopamin- bzw. Glutamattransmission möglicherweise bei der Pathologie der Schizophrenie von Bedeutung ist (Stefansson et al. 2002, Hashimoto et al. 2004, Harrison & Weinberger 2005, Law et al. 2006), scheint dieser Befund besonders interessant. Das NRG1-Gen wurde bei systematischen Assoziationsanalysen in der Kopplungsregion 8p12 als schizophrenierelevantes Dispositionsgen identifiziert (Stefansson et al. 2002, Harrison & Law 2006). Die Ergebnisse unabhängiger Untersuchungen von NRG1 wurden in einer Metaanalyse zusammengefasst. Dabei ergaben sich hochsignifikante Assoziationshinweise zwischen genetischen Varianten des NRG1-Gens und schizophrener Störung bei einer allerdings geringen NRG1 Effektstärke (Odds Ratio < 1.5) (Tosato et al. 2005). Nicht zuletzt aufgrund der vielen unterschiedlichen Allele und Haplotypen die bei der Disposition zur Schizophrenie relevant sein könnten, konnte die funktionelle Rolle von NRG1 in der Schizophrenie bislang noch nicht aufgeklärt werden (Ross et al. 2006). Bekannt ist, dass NRG1 an einer Vielzahl neuronaler Prozesse beteiligt ist, wobei die Regulation der glutamatergen Neurotransmission derzeit im Mittelpunkt des Interesses steht (Hahn et al. 2006).

Die Ergebnisse mehrerer Kopplungs-, Assoziations- und Microarray-Studien liefern Hinweise dafür, dass es sich beim RGS4-Gen um ein mögliches Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie handeln könnte.

2001 wurde erstmals ein Zusammenhang zwischen Schizophrenie und dem RGS4-Gen berichtet. In einer nicht *a priori* mit Schizophrenie assoziierten cDNA-Microarray Analyse wurde eine signifikante Reduktion von RGS4 mRNA in *post-mortem* Hirnen schizophrener Patienten gefunden (Mirnics et al. 2001). Zu diesem Zeitpunkt war nur eine Isoform des RGS4 Gens bekannt. Das Transkript des RGS4-Gens war bei Schizophreniepatienten im präfrontalen Kortex um 34% reduziert. Die Expressionsraten zehn weiterer RGS-Gene und insgesamt 274 Gene, die mit G-Protein gekoppelter Signaltransduktion assoziiert sind, waren dagegen unverändert. Die RGS4 Microarray Befunde wurden mit Hilfe quantitativer *in situ* Hybridisierung bestätigt (Mirnics et al. 2001). Dabei wurden bei schizophrenen Patienten auch in zwei weiteren Hirnarealen signifikant reduzierte RGS4-Expressionen gefunden: Im visuellen Kortex war die Expression um 33% und im motorischen Kortex um 34% reduziert. Da im zerebralen und präfrontalen Kortex schizophrener Patienten kein signifikanter Zellverlust gefunden wurde (Pakkenberg 1993, Thune & Pakkenberg 2000), folgern Mirnics et al., dass die reduzierte RGS4-Expression bei den Schizophreniepatienten vermutlich auf ein

reduziertes Transkriptionsniveau in den individuellen Neuronen zurückzuführen ist (Mirnics et al. 2001). In einem nächsten Schritt untersuchten Mirnics et al. (2001), ob die reduzierte RGS4-Expression auch mit weiteren psychischen Erkrankungen assoziiert ist. Bei Patienten mit starker depressiver Verstimmung war eine unveränderte RGS4-Expression im präfrontalen Kortex feststellbar. Ebenfalls keine Veränderung der RGS4-Expression war bei Affen, die über einen längeren Zeitraum mit Haloperidol behandelt wurden, erkennbar. Die Reduktion des RGS4-Transkripts scheint nicht mit allen psychischen Erkrankungen oder chronischer neuroleptischer Medikation assoziiert zu sein. Interessant ist auch der Befund, dass von den 70 untersuchten Genen aus der Region 1q21-22, einem scheinbar mit Schizophrenie gekoppelter Locus (Brzustowicz et al. 2000), lediglich das RGS4-Gen konsistent eine veränderte Expression zeigte. Diese Befundlage deutet darauf hin, dass die Reduktion der RGS4-Expression ein Charakteristikum der Schizophrenie aufgrund genetischer Faktoren oder krankheitsspezifischer Adaptation sein könnte, wobei beide die neuronale Signaltransduktion beeinflussen könnten (Mirnics et al. 2001).

Weitere Studien, welche die Expression von RGS4 mRNA und Proteinen in unterschiedlichen kortikalen und subkortikalen Regionen schizophrener Patienten untersuchten, konnten die Ergebnisse von Mirnics et al. (2001) bestätigen. Erdely et al. (2006) fanden im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden eine signifikante Reduktion von RGS4 mRNA im Gyrus cingularis, im superioren frontalen Gyrus sowie dem insulären Kortex aller untersuchten Schizophreniepatienten. Messungen der Protein-Level wiesen auf einen reduzierten RGS4 Proteinstatus im frontalen Kortex schizophrener Patienten hin (Erdely et al. 2006). Eine weitere Studie fand signifikant reduzierte RGS4 mRNA-Level im superioren temporalen Gyrus schizophrener Patienten (Bowden et al. 2007). Auch negative Befunde wurden berichtet; so fanden Lipska et al. in ihren Analysen keine Veränderung der RGS4 Expression im dorsolateralen Präfrontalkortex und dem Hippokampus schizophrener Patienten (Lipska et al. 2006). Ding & Hegde (2009) analysierten die Expressionsraten der fünf Isoformen des RGS4-Gens und fanden ein reduzierten mRNA-Level der Isoform RGS4-3 im dorsolateralen Präfrontalkortex schizophrener Patienten, während die allgemeine RGS4-Expression und die Expression der anderen Isoformen zwischen den Gruppen nicht variierte.

Bei einer Kopplungsstudie war die Chromosomenregion 1q21-22 – eine benachbarte Region des RGS4-Gens – am stärksten mit Schizophrenie gekoppelt (LOD Score 6.5) (Brzustowicz et al. 2000). Kurze Zeit später konnte dieselbe Arbeitsgruppe diesen Befund durch fine mapping

des Suszeptibilitätslocus 1q22 bei der gleichen Stichprobe bestätigen (Brzustowicz et al. 2002). Follow-Up-Studien von Brzustowicz et al. konnten jedoch in derselben Stichprobe keine Assoziation von RGS4 und Schizophrenie finden (Brzustowicz et al. 2004, in Talkowski et al. 2006).

Bislang wurden mehrere Studien veröffentlicht, in denen der Zusammenhang zwischen Schizophrenie und RGS4-Polymorphismen untersucht wurde.

1. Assoziationsstudie von Chowdari et al. (2002)

Chowdari et al. führten 2002 als erste Arbeitsgruppe in einer familienbasierten und einer Fall-Kontroll-Stichprobe eine Assoziations- und Kopplungsstudie mit RGS4-Polymorphismen durch (Chowdari et al. 2002). Insgesamt wurden 1400 Personen, die aus drei unabhängigen Stichproben aus Pittsburgh, der National Institutes of Mental Health (NIMH) Collaborative Genetics Initiative (Cloninger et al. 1998) und Neu Delhi stammten, in die Studie einbezogen. Die drei Stichproben unterschieden sich dabei bezüglich der Ethnizität der Teilnehmer:

- (1) In Pittsburgh wurden 93 Fall-Eltern-Trios kaukasischer Abstammung – 55 davon mit Schizophrenie, 38 mit schizoaffectiver Störung – untersucht.
- (2) Das Patientenkollektiv der NIMH Collaborative Genetics Initiative bestand aus 39 Fall-Eltern-Trios und 30 erkrankten Geschwisterpaaren, wobei die Patienten an Schizophrenie oder schizoaffectiver Störung litten. Davon waren 25 kaukasischer, 10 afroamerikanischer und 4 anderer Abstammung.
- (3) Die indische Neu Delhi Schizophrenie-Stichprobe umfasste 269 Fall-Eltern-Trios sowie 72 erkrankte Geschwisterpaare (Chowdari et al. 2002).

Zusätzlich wurde eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mit den Patienten der Pittsburgh-Stichprobe (n = 93) und zwei unabhängigen Kontrollprobandenstichproben (n = 85 Blutproben von kaukasischen Neugeborenen und n = 89 erwachsene kaukasische Kontrollprobanden) durchgeführt. Die Arbeitsgruppe wählte von 26 identifizierten RGS4-SNPs 13 SNPs für den Transmission Disequilibrium Test (TDT) aus. In beiden amerikanischen Kollektiven (Pittsburgh und NIMH) wurden bei vier SNPs (rs10917670 (SNP 1), rs951436 (SNP 4), rs951439 (SNP 7) und rs2661319 (SNP 18), Abbildung 7), Verzerrungen bei der Transmission der Allele und Haplotypen festgestellt. Jedoch waren in den beiden Stichproben unterschiedliche Allele und Haplotypen mit Schizophrenie assoziiert. Im kaukasischen Pittsburgh Schizophrenie-Sample (Fall-Eltern-Trios) war das G-Allel des

Polymorphismus rs951436 (SNP 4) mit Schizophrenie assoziiert ($p = 0.05$). Im NIMH Sample waren die SNPs rs10917670 (SNP 1) (A-Allel, Gesamtstichprobe: $p = 0.01$; begrenzt auf die kaukasische und „andere Ethnizitäten“ Gruppe: $p = 0.023$), rs951436 (SNP 4) (T-Allel, Gesamtstichprobe: $p = 0.003$; begrenzt auf die kaukasische und „andere Ethnizitäten“ Gruppe: $p = 0.011$) und rs2661319 (SNP 18) (A-Allel, Gesamtstichprobe: $p = 0.005$; begrenzt auf die kaukasische und „andere Ethnizitäten“ Gruppe: $p = 0.033$) mit Schizophrenie assoziiert, wobei die Ergebnisse nicht für multiples Testen korrigiert wurden (Chowdari et al. 2002). Im indischen Sample war keiner der Polymorphismen mit der Schizophrenie assoziiert (Tabelle 2a, Seite 74). Auch die mit der Erkrankung assoziierten Haplotypen unterschieden sich in den einzelnen Gruppen: In der Pittsburgh-Gruppe war der Haplotyp bestehend aus den SNPs rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz G-G-G-G mit der Erkrankung assoziiert ($p = 0.035$), wohingegen in den Stichproben der NIMH ($p = 0.016$) und aus Neu Delhi ($p = 0.055$) der Haplotyp mit der Allelsequenz A-T-A-A am häufigsten in der Patientengruppe gefunden wurde (Chowdari et al. 2002, Tabelle 2a, Seite 74). Zudem waren die Risiko-Haplotypen mit einer geschätzten Frequenz von 0.44 (G-G-G-G) bzw. 0.39 (A-T-A-A) gleichzeitig die Haplotypen, die in der jeweiligen Population am häufigsten vorkommen. Der Fall-Kontroll-Vergleich in der Pittsburgh-Stichprobe erbrachte keine signifikante Assoziation der Allele oder Haplotypen mit Schizophrenie (Chowdari et al. 2002).

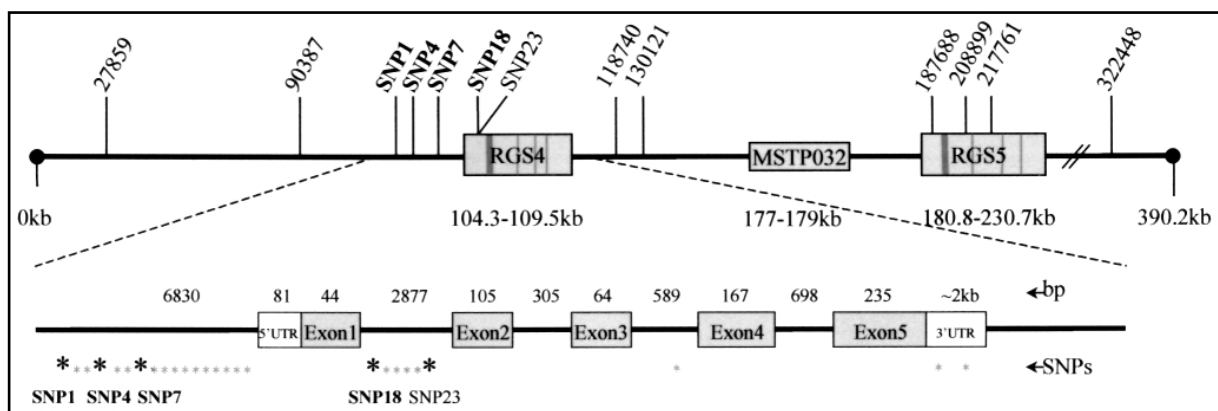


Abbildung 7: Genomische Organisation von RGS4 und den umgebenden Regionen. Die SNPs rs10917670 (SNP 1), rs951436 (SNP 4) und rs951439 (SNP 7) sind in der 5'UTR und SNP rs2661319 (SNP 18) im ersten Intron des RGS4-Gens lokalisiert (Chowdari et al. 2002).

Aufgrund der Position der vier SNPs rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319 und daraus gebildeter Haplotypen im Bereich vor dem RGS4-Gen ist ein Einfluss dieser Polymorphismen auf die Transkriptionsregulation denkbar. Daher untersuchten Chowdari et

al. (2008) in einer kaukasischen Stichprobe mit Hilfe des Dual-Luciferase Reporter Systems *in vitro* die Promotoraktivitäten verschiedener SNPs und Haplotypen. Die Analyse der 5'UTR deutet darauf hin, dass beide eventuell mit Schizophrenie assoziierten und häufig vorkommenden Haplotypen (G-G-G-G und A-T-A-A) einen vergleichbaren Einfluss auf die Promotoraktivität haben und daher möglicherweise beide eine ähnliche funktionale Rolle für die Transkriptionsregulation des RGS4-Gens besitzen. Eine LD-Analyse mit 24 SNPs bei 308 Personen ergab zwei große Cluster, die 12 der SNPs beinhalteten, unter anderem auch die vier Marker rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319 (Chowdari et al. 2008).

Im Anschluss an die Arbeit von Chowdari et al. (2002) wurden mehrere unabhängige Studien initiiert, die alle die vier von Chowdari und Kollegen analysierten SNPs (rs10917670 (SNP 1), rs951436 (SNP 4), rs951439 (SNP 7) und rs2661319 (SNP 18)) untersuchten.

2. Assoziationsstudie von Williams et al. (2004)

In einer großen Fall-Kontroll-Assoziationsstudie analysierten Williams et al. (2004) den Zusammenhang zwischen Schizophrenie und den gleichen vier Markern des RGS4-Gens (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319), die bereits Chowdari et al. (2002) untersuchten. Die Stichprobe setzte sich aus 710 nichtverwandten, kaukasischen Probanden aus England und Irland, sowie 709 Schizophreniepatienten zusammen. Alle Patienten erfüllten die DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie. Die Kontrollprobanden stammten aus einer Stichprobe von Blutspendern und wurden nicht auf das Vorliegen von psychiatrischen Erkrankungen gescreent. Zwei der vier untersuchten Marker zeigten einen signifikanten Zusammenhang mit Schizophrenie: Das T-Allel in SNP rs951436 ($p = 0.017$, OR = 1.2) sowie das A-Allel in SNP rs2661319 ($p = 0.038$, OR = 1.17) waren mit der Erkrankung assoziiert (Tabelle 2a, Seite 74). Auch der aus den SNPs rs951436 und rs2661319 (T-A) gebildete Haplotyp war mit Schizophrenie assoziiert ($p = 0.02$, OR = 1.2). Aufgrund der starken Kopplung der beiden Marker folgern die Autoren jedoch, dass die Assoziation des Haplotypen und der Erkrankung auf den Zusammenhang des SNP rs951436 mit der Schizophrenie zurückgeführt werden kann. Williams et al. (2004) versuchten die von Chowdari et al. (2002) gefundenen Assoziationen der drei- bzw. vier-Marker-Haplotypen und der Erkrankung zu replizieren, jedoch ohne Erfolg.

3. Assoziationsstudie von Morris et al. (2004)

Morris et al. (2004) analysierten in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie die gleichen vier Marker (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319), die bereits Chowdari et al. (2002) untersuchten. Die Stichprobe bestand aus 249 Patienten und 231 Kontrollprobanden irischen Ursprungs. Die Patientengruppe setzte sich aus schizophrenen Patienten (n = 196) und solchen mit einer schizoaffektiven Störung (n = 53) zusammen, wobei die Diagnosen mit Hilfe des SKID nach DSM-III-R-Kriterien gestellt wurden. Die Kontrollprobanden waren Blutspender, die nicht explizit auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent wurden. Bezogen auf die Gesamtgruppe der Patienten (schizophrene Patienten + Patienten mit einer schizoaffektiven Störung) wurden keine signifikanten Assoziationen mit den untersuchten RGS4-Polymorphismen gefunden. Wurde die Analyse auf die Stichprobe der an Schizophrenie erkrankten Patienten begrenzt, zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Schizophrenie und dem G-Allel in SNP rs10917670 ($p = 0.042$) und dem G-Allel in SNP rs951439 ($p = 0.041$), wobei die beiden Polymorphismen stark gekoppelt waren (Morris et al. 2004). Für das G-Allel des SNP rs951436 wurde ein Trend zur Assoziation ($p = 0.082$) mit der Schizophrenie beschrieben. Ebenfalls in der nur auf schizophrene Patienten begrenzten Gruppe, wurde eine signifikante Assoziation ($p = 0.044$, OR = 1.32) zwischen dem vier-Marker-Haplotyp (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319) mit der Allelsequenz G-G-G-G und der Schizophrenie gefunden (Morris et al. 2004, Tabelle 2a, Seite 74). Dieser Befund stimmt mit den Ergebnissen aus der Pittsburgh-Gruppe (Chowdari et al. 2002) überein. Morris et al. (2004) schlussfolgern aus ihren Ergebnissen, dass diese für eine Assoziation der untersuchten RGS4-Polymorphismen und der Schizophrenie sprechen, wobei sie die kleine Fallzahl und die daraus resultierende geringe Power als einen limitierenden Faktor diskutieren.

4. Assoziationsstudie von Chen et al. (2004)

Die erste familienbasierte Replikationsstudie wurde an einer irischen Stichprobe mit mehreren betroffenen Familienmitgliedern durchgeführt (Chen et al. 2004). Die 1400 Patienten und 274 Angehörigen dieser Studie stammten aus Nordirland und der Republik Irland und waren Teilnehmer an der Irish Study of High Density Schizophrenia Families. Die Patienten wurden für diese Studie in drei Gruppen unterteilt: (1) „Kern-Schizophrenie“: Patienten mit einer Schizophrenie oder einer „poor-outcome“ schizoaffektiven Störung (75 Trios, 650 Geschwisterpaare); (2) „Zwischenkategorie“: Patienten mit Störungen aus dem

Schizophrenie-Spektrum (hierzu zählten beispielsweise schizotype Persönlichkeitsstörung, schizophreniforme Störung oder „good-outcome“ schizoaffektive Störung); (3) „Breite Kategorie“: Patienten mit psychotischen affektiven Störungen oder paranoider, vermeidender oder schizoiden Persönlichkeitsstörung. Die Analyse erfolgte mit zwei unterschiedlichen TDTs: pedigree disequilibrium tests (PDT) (Martin et al. 2000) und family-based association test (FBAT) (Laird et al. 2000). Untersucht wurden die vier SNPs rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319 des RGS4-Gens. In der Stichprobe der „Kern-Schizophrenie“ wurden signifikante Assoziationen des SNP rs2661319 (G-Allel) und Schizophrenie (PDT: $p = 0.0073$; FBAT: $p = 0.0440$) sowie einen Trend zur Assoziation (PDT: $p = 0.0249$; FBAT: $p = 0.1098$) für den SNP rs951436 (G-Allel) gefunden, wobei die Ergebnisse nicht für multiples Testen korrigiert wurden. Bei einer erneuten Analyse der Daten mit einer anderen Software (TRANSMIT program; Clayton 1999, Clayton & Jones 1999) konnte die signifikante Assoziation dieser SNPs nicht gefunden werden. Ebenfalls keinen statistisch bedeutsamen Zusammenhang mit der Erkrankung zeigten die SNPs rs10917670 und rs951439 (Chen et al. 2004). Die Analyse der zwei-, drei und vier-Marker-Haplotypen zeigte in der Gruppe der „Kern-Schizophrenie“ eine Übertransmission des am weitesten verbreiteten (Frequenz 42%) Haplotypen (SNPs rs10917670-rs951436-rs2661319) G-G-G in der Patientengruppe (PDT: $p = 0.0534$; FBAT: $p = 0.0445$, Tabelle 2a, Seite 74), was mit den Ergebnissen aus der Pittsburgh-Stichprobe (Chowdari et al. 2002) und der Stichprobe von Morris et al. (2004) übereinstimmt. Aufgrund des Befundes, dass die Assoziationen der RGS4-SNPs und Haplotypen am stärksten in der Gruppe der „Kern-Schizophrenie“ waren, folgerten die Autoren, dass RGS4 möglicherweise eher für die Schizophrenie, als für Störungen aus dem Schizophrenie-Spektrum als Suszeptibilitätsgen zu diskutieren sei (Chen et al. 2004).

5. Assoziationsstudie von Cordeiro et al. (2005)

In einer ethnisch diversifizierten Stichprobe bestehend aus 271 brasilianischen Schizophreniepatienten (DSM-IV-Kriterien) und 576 brasilianischen Kontrollprobanden untersuchten Cordeiro et al. (2005) die gleichen vier RGS4-Marker (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319). Die Kontrollen wurden aus einer Stichprobe von Blutspendern rekrutiert, ohne auf psychiatrische Erkrankungen gescreent zu werden. Weder die Basenaustauschpolymorphismen noch die daraus gebildeten Haplotypen waren mit der Schizophrenie assoziiert (Cordeiro et al. 2005). Neben dieser Fall-Kontroll-Assoziationsstudie führten Cordeiro et al. (2005) auch eine familienbasierte Untersuchung durch, wobei die psychiatrisch gesunden Eltern von 49 Schizophreniepatienten einbezogen wurden. Der auf

einzelne SNPs und individuelle Haplotypen angewandte TDT erbrachte einen Trend zur Assoziation: Das G-Allel in SNP rs2661319 war tendenziell mit der Erkrankung assoziiert ($p = 0.058$). Auch der Haplotyp (rs10917670–rs951436–rs951439–rs2661319) mit der Allelsequenz G-G-G-G zeigte einen Trend zur Assoziation ($p = 0.1$), was mit den Ergebnissen der Pittsburgh-Stichprobe (Chowdary et al. 2002) übereinstimmt. Der globale Test (TRANSMIT program; Clayton 1999, Clayton & Jones 1999) erbrachte jedoch keine signifikante Assoziation des vier-Marker-Haplotypen (rs10917670–rs951436–rs951439–rs2661319) mit der Schizophrenie (Tabelle 2a, Seite 74). Als mögliche Gründe für diese Ergebnisse diskutieren die Autoren die geringe Power (vor allem der familienbasierten Assoziationsstudie) sowie die ethnische Diversität ihrer Stichprobe (Cordeiro et al. 2005).

6. Assoziationsstudie von Fallin et al. (2005)

Fallin et al. (2005) analysierten 440 SNPs aus 64 Genen, die aufgrund von Kopplungs- oder Assoziationsstudien sowie aufgrund ihrer biologischen Relevanz ausgesucht wurden. In die familienbasierte Assoziationsstudie wurden drei Patientengruppen einbezogen: Patienten mit einer Bipolar I Störung ($n = 337$ Trios aus 323 Familien) und Patienten mit einer schizoauffektiven Störung oder einer Schizophrenie ($n = 274$ Trios aus 263 Familien), wobei die Störungen die jeweiligen DSM-IV-Kriterien erfüllten. 21% ($n = 57$ Trios) der Gruppe mit schizoauffektiven und schizophrenen Störungen, litten an einer Schizophrenie. Um die genetische Heterogenität zu reduzieren wurden ausschließlich Patienten in die Studie eingeschlossen, deren Eltern und Großeltern aschkenasische Juden waren. Eine weitere Forderung war, dass von beiden Elternteilen eines Patienten DNA vorlag. Die untersuchten RGS4-Polymorphismen (rs951439, rs2842030, rs2344671) zeigten keine Assoziation mit den Erkrankungen in der Gesamtgruppe der Patienten mit einer schizoauffektiven Störung oder einer Schizophrenie. Wurden die Analysen jedoch nur auf die Gruppe der Schizophreniepatienten bezogen, waren statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen allen drei Polymorphismen rs951439 ($p = 0.006$), rs2842030 ($p = 0.019$), rs2344671 ($p = 0.007$) des RGS4-Gens und der Schizophrenie feststellbar (Tabelle 2a, Seite 74, Fallin et al. 2005). Die mit Schizophrenie assoziierten Allele der drei Polymorphismen werden in dem veröffentlichten Artikel (Fallin et al. 2005) nicht angegeben.

7. Assoziationsstudie von Zhang et al. (2005)

In einer familienbasierten und einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie untersuchten die Autoren in einer Stichprobe Han-Chinesen (184 Trios und 138 Geschwisterpaare, Tabelle 2a, Seite 74) sowie einer schottischen Population (580 Patienten und 620 Kontrollprobanden, Tabelle 2b, Seite 75) den Zusammenhang von RGS4-Polymorphismen (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319) und der Schizophrenie (Zhang et al. 2005). In der familienbasierten Assoziationsstudie wurden Han-Chinesen aus der gleichen geographischen Region untersucht, die nach DSM-III-R- oder DSM-IV-Kriterien an einer Schizophrenie litten. Die schottische Stichprobe der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie setzte sich aus einem gemischten Patientenkollektiv zusammen: Einbezogen wurden sowohl Patienten, die an einer Schizophrenie litten, als auch solche, bei denen eine schizoaffektive Störung diagnostiziert wurde (jeweils nach DSM-III-R- oder DSM-IV-Kriterien). Die Kontrollprobanden der Fall-Kontroll-Stichprobe waren Blutspender, die vor Studieneinschluss nicht explizit auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent wurden. Die Allelfrequenzen und Kopplungsungleichgewichte zwischen den SNPs waren in beiden Populationen ähnlich. Im chinesischen Sample zeigte keiner der Marker oder daraus gebildete Haplotypen einen signifikanten Zusammenhang mit der Erkrankung. Im schottischen Sample hingegen war das A-Allel in SNP rs951439 mit der Schizophrenie assoziiert ($p = 0.011$), ebenso wie der zwei-Marker-Haplotyp (SNPs rs951436-rs951439) mit der Allelsequenz T-A ($p = 0.04$), dies nach der Korrektur für multiples Testen. Der vier-Marker-Haplotyp (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319) mit der Allelsequenz A-T-A-A zeigte im schottischen Sample zunächst eine Assoziation mit der Erkrankung ($p = 0.032$), dieser Zusammenhang war nach der Korrektur für multiples Testen jedoch nicht mehr signifikant (Zhang et al. 2005).

8. Assoziationsstudie von Sobell et al. (2005)

Sobell et al. (2005) untersuchten 568 kaukasische Patienten, wobei nach DSM-III-R Kriterien 534 (94%) an einer Schizophrenie und 34 (6%) an einer schizoaffektiven Störung litten. Nachdem die Autoren für die beiden Gruppen keine Unterschiede in ihren Ergebnissen fanden, bezogen sie ihre Befunde auf die Gesamtstichprobe. Als Kontrollgruppe diente eine Stichprobe von 689 kaukasischen Probanden, wobei Personen mit einer psychotischen Erkrankung ausgeschlossen wurden. Sobell et al. (2005) untersuchten die gleichen vier Basenaustauschpolymorphismen wie die anderen Arbeitsgruppen (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319) und fanden keine signifikanten Assoziationen zwischen diesen

SNPs oder daraus gebildeten vier-, drei- oder zwei-Marker Haplotypen und der Erkrankung (Tabelle 2b, Seite 75). Diese Befundlage änderte sich auch nicht, nachdem die Autoren die Analysen nur auf schizophrene Patienten beschränkten (Sobell et al. 2005).

9. Assoziationsstudie von Liu et al. (2006)

In einer taiwanesischen Stichprobe (Ethnizität überwiegend Han-Chinesen) analysierten Liu et al. (2006) den Zusammenhang zwischen Schizophrenie und drei RGS4-Polymorphismen (rs951436, rs951439, rs2661319) sowie daraus gebildeter Haplotypen. Im familienbasierten Studiendesign wurden 218 Familien mit mindestens zwei an Schizophrenie erkrankten Personen untersucht mit einer Gesamtteilnehmerzahl von 864 Personen (Liu et al. 2006). Die Patienten erfüllten alle die DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie. Keiner der untersuchten RGS4-SNPs noch daraus gebildete Haplotypen waren mit Schizophrenie assoziiert (Tabelle 2b, Seite 75). Daher diskutieren die Autoren, dass das RGS4-Gen in asiatischen Populationen möglicherweise weniger Einfluss auf die Krankheitsentstehung haben könnte, als dies in Populationen anderer Ethnizitäten der Fall sein könnte (Liu et al. 2006).

10. Assoziationsstudie von Ishiguro et al. (2007)

In einer großen Stichprobe bestehend aus 1918 Schizophreniepatienten (Diagnose nach DSM-IV) und 1909 gesunden, nichtverwandten Kontrollen japanischer Herkunft untersuchten die Autoren die vier RGS4-SNPs rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319 sowie daraus gebildete Haplotypen. Keiner der vier Marker, die sich im Kopplungsungleichgewicht befanden, war mit der Erkrankung assoziiert (Tabelle 2b, Seite 75). Ebenso wie in Stichproben anderer Ethnizität waren die zwei häufigsten vier-Marker-Haplotypen (rs10917670–rs951436–rs951439–rs2661319) A-T-A-A und G-G-G-G, die beide keinen Zusammenhang zur Schizophrenie aufwiesen (Ishiguro et al. 2007).

11. Assoziationsstudie von Rizig et al. (2006) und Puri et al. (2007)

In beiden Studien (Rizig et al. 2006, Puri et al. 2007) wurde dieselbe Stichprobe bestehend aus 450 Schizophreniepatienten (Diagnose nach ICD-10) und 450 Kontrollprobanden untersucht. Vor Studieneinschluss wurden die Kontrollen auf das Vorliegen von psychiatrischen Erkrankungen gescreent, auch in der Familienanamnese durften keine Schizophrenie, Bipolare Störungen oder Alkoholabusus vorliegen. Die Teilnehmer selbst, ihre Eltern und mindestens drei ihrer Großeltern stammten aus England, Irland, Welsh oder

Schottland. Rizig et al. (2006) analysierten die SNPs rs951436, rs951439 und rs2661319 sowie einen Mikrosatelliten, der sich 7 kb in 5'-Richtung vor dem RGS4-Gen befindet. Keiner der Polymorphismen zeigte eine Assoziation mit der Erkrankung. Puri et al. (2007) genotypisierten 29 SNPs und Mikrosatelliten in der chromosomalen Region 1q23.3, worunter neben den RGS4-Polymorphismen rs951436, rs951439 und rs2661319 auch Marker des CAPON-Gens waren. Die Analysen erbrachten keine signifikanten Assoziationen zwischen RGS4- und CAPON-Polymorphismen und der Schizophrenie (Tabelle 2b, Seite 75). Jedoch wurden Assoziationen der Erkrankung mit dem chromosomalen Locus UHMK1 gefunden, der in 5'-Richtung vor dem RGS4-Gen lokalisiert ist und sich sowohl mit dem RGS4- als auch dem CAPON-Locus im Kopplungsungleichgewicht befindet (Puri et al. 2007). Die Autoren diskutieren, dass die von anderen Arbeitsgruppen berichteten Assoziation von RGS4-Markern und der Schizophrenie möglicherweise aufgrund der räumlichen Nähe dieses Gens zum Locus UHMK1 zustande gekommen sein könnten (Puri et al. 2007).

12. Assoziationsstudie und Metaanalyse von Guo et al. 2006

Guo et al. (2006) führten eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie sowie eine Metaanalyse durch. In der Fall-Kontroll-Studie untersuchten sie 288 Schizophreniepatienten (DSM-IV Diagnose) sowie 288 Kontrollprobanden, allesamt Han Chinesen (Tabelle 2b, Seite 75). Die analysierten RGS4-SNPs waren: rs2661319, rs2842030, rs2344671, rs10917670, rs951436, rs951439. Keiner der untersuchten Marker oder daraus gebildete Haplotypen zeigten eine Assoziation mit Schizophrenie (Guo et al. 2006).

In ihre Metaanalyse bezogen Guo et al. (2006) nur Studien mit einem Fall-Kontroll-Design ein: Williams et al. (2004), Morris et al. (2004), Cordeiro et al. (2004), Sobell et al. (2005), Zhang et al. (2005), Rizig et al. (2006) sowie ihre eigene Stichprobe (Guo et al. 2006). Insgesamt wurden 3062 Patienten und 3564 Kontrollprobanden unterschiedlicher Ethnizität in die Metaanalyse eingeschlossen (Tabelle 2c, Seite 76). In die Gruppe der Patienten wurden Personen mit einer Schizophrenie oder schizoaffektiven Störung einbezogen, aus der Studie von Morris et al. (2004) wurden nur die 196 Patienten mit einer Schizophrenie berücksichtigt, die Samples von Sobell et al. (2005) und Zhang et al. (2005) wurden vollständig in die Metaanalyse eingeschlossen. Keiner der vier untersuchten RGS4-Marker (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319) zeigte eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie; das Ergebnis änderte sich auch nicht, nachdem die Autoren ihre eigene Stichprobe aus der Metaanalyse entfernten (Guo et al. 2006).

13. Metaanalyse von Li & He 2006

In die Metaanalyse von Li & He (2006) wurden die Daten von folgenden publizierten Fall-Kontroll-Assoziationsstudien einbezogen: Morris et al. (2004, begrenzt auf die Gruppe der Schizophreniepatienten), Williams et al. (2004) und Cordeiro et al. (2004) sowie die familienbasierten Daten von Chowdari et al. (2002) und Cordeiro et al. (2004). Untersucht wurde der Zusammenhang zwischen vier RGS4-Polymorphismen (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319) und Schizophrenie an 1176 Patienten, 1517 Kontrollprobanden und 211 Trios/Geschwisterpaaren (Tabelle 2c, Seite 76). In der Metaanalyse zeigten weder die Allele noch die Genotypen der untersuchten RGS4-Marker eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung (Li & He 2006).

14. Metaanalyse von Talkowski et al. 2006

Die bislang umfangreichste Metaanalyse wurde von Talkowski et al. (2006) durchgeführt. In dieser Metaanalyse wurden die vier von Chowdari et al. (2002) beschriebenen SNPs (rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319) sowie daraus gebildete Haplotypen untersucht. Sowohl Fall-Kontroll- als auch familienbasierte Assoziationsstudien wurden einbezogen um konfundierende Effekte der Populationsstratifikation abzuschwächen. Um dem Publikationsbias entgegenzuwirken, wurden sowohl publizierte als auch nicht publizierte Studien eingeschlossen, wobei sich der Großteil der nicht publizierten Studien aus solchen Untersuchungen zusammensetzte, die zum Zeitpunkt der Metaanalyse noch nicht abgeschlossen waren. Insgesamt wurden 13807 Personen aus 13 Studien in die Metaanalyse aufgenommen. Zehn der insgesamt 13 Studien verwendeten familienbasierte Designs, wobei sowohl Fall-Eltern-Trios (n = 1716 Familien) als auch Patienten mit nur einem Elternteil (n = 444 Familien) untersucht wurden. Insgesamt wurden 7810 Personen aus 2160 Familien in die Metaanalyse einbezogen (Tabelle 2c, Seite 76). Acht der 13 Studien untersuchten nichtverwandte Kontrollprobanden und Patienten in einem Fall-Kontroll-Design. Insgesamt 3755 Kontrollprobanden (teilweise auf das Vorliegen von psychiatrischen Störungen gescreent, teilweise nicht) und 3486 Patienten mit einer Schizophrenie oder einer schizoauffektiven Störung (DSM-III-R- oder DSM-IV-Kriterien) wurden in der Metaanalyse verglichen (Tabelle 2c, Seite 76). 77.28% der Personen aus den Fall-Kontroll-Studien (rekrutiert aus sechs Studien) berichteten eine kaukasische Ethnizität; die restlichen Personen waren indischer, chinesischer und brasilianischer Herkunft. Bei der Auswertung der Daten wurden die familienbasierten und die Fall-Kontroll-Assoziationsstudien getrennt analysiert.

Die Ergebnisse der Metaanalyse deuten auf eine moderate Assoziation zwischen dem RGS4-Gen und Schizophrenie hin. Die Analyse der Haplotypen-Transmission ergab in den familienbasierten Untersuchungen für die Patientengruppen eine signifikant erhöhte Transmissionsrate ($p = 0.004$) der zwei häufigsten vier-Marker-Haplotypen (rs10917670–rs951436–rs951439–rs2661319) mit den Allelsequenzen G-G-G-G (42.4%) und A-T-A-A (38.9%; Talkowski et al. 2006). Auf die Gesamtstichprobe bezogen erbrachte die Auswertung der Fall-Kontroll-Daten eine signifikante Assoziation zweier SNPs mit der Erkrankung: Bei SNP rs951436 war das T-Allel in der Patientengruppe signifikant erhöht ($p = 0.01$), bei rs951439 das A-Allel ($p = 0.05$). Wurden die Analysen auf die kaukasische Stichprobe begrenzt, war die Assoziation nicht mehr signifikant. Die Zusammenhänge zwischen der Erkrankung und den anderen beiden Basenaustauschpolymorphismen waren statistisch nicht bedeutsam (Talkowski et al. 2006).

15. Assoziationsstudie von Vilella et al. 2007

In einer spanischen Stichprobe analysierten Vilella et al. (2007) den Zusammenhang zwischen Markern von mehreren Suszeptibilitätsgenen für Schizophrenie – unter anderem auch RGS4-Polymorphismen – und der Erkrankung. Alle 589 Patienten erfüllten die DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie, die 615 Kontrollprobanden wurden im Vorfeld der Untersuchung auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent und gegebenenfalls ausgeschlossen (Vilella et al. 2007). Der aus den zwei RGS4-Markern rs2940251 und rs2063142 gebildete Haplotyp zeigte keine Assoziation mit der Schizophrenie (Tabelle 2b, Seite 75).

16. Assoziationsstudie von Wood et al. 2007

Wood et al. (2007) analysierten in einer kaukasischen Stichprobe den Zusammenhang zwischen Schizophrenie und insgesamt 120 SNPs aus fünf Genen, unter anderem auch neun RGS4-Polymorphismen (rs951436, rs10759, rs10799897, rs16849502, rs17493292, rs2661334, rs2841959, rs6659268, rs6691456). Einbezogen in die Untersuchung wurden 311 Patienten mit einer Schizophrenie, 140 mit einer schizoaffektiven Störung (beide Diagnosen nach DSM-IV-Kriterien) und 291 gesunde Kontrollprobanden (Tabelle 2b, Seite 75). Lediglich ein untersuchter RGS4-Marker (rs951436) zeigte in der Stichprobe der Schizophreniepatienten eine schwache Assoziation mit der Erkrankung ($p = 0.0478$, T-Allel assoziiert) – ein Zusammenhang, der nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen nicht

mehr signifikant war und in der Gesamtgruppe (Schizophreniepatienten und Patienten mit schizoaffectiver Störung) nicht gefunden wurde (Wood et al. 2007).

17. Assoziationsstudie von So et al. (2008)

So et al. (2008) untersuchten in einer chinesischen Stichprobe den Zusammenhang zwischen Schizophrenie bzw. klinischen und neurokognitiven Parametern und vier RGS4-Polymorphismen (rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319). Das Sample bestand aus 504 Patienten mit einer Schizophrenie (DSM-IV-Diagnose) und 531 Kontrollprobanden, die vor Studieneinschluss nicht auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent wurden (Blutspender). Der Schweregrad der klinischen Symptome wurde mit der PANSS (Kay et al. 1987) eingeschätzt, die kognitiven Fähigkeiten mit dem Wechsler Adult Intelligence Test (WAIS), dem Cambridge Neurological Inventory, dem Stroop Test und einer Wortflüssigkeitsaufgabe (So et al. 2008). Die Autoren fanden keine signifikante Assoziation der Allele bzw. Genotypen mit dem klinischen Phänotypen der Schizophrenie. Der Haplotyp (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319) mit der Allelsequenz G-G-G-G war aber mit Schizophrenie assoziiert (UNPHASED: $p = 0.019$, PHASE: $p = 0.010$, Tabelle 2b, Seite 75). Zwar wurden keine Assoziationen zwischen den untersuchten RGS4-Markern und klinischen Variablen wie Krankheitsverlauf oder Behandlungs-Response gefunden, jedoch waren die Marker rs951436 und rs2661319 mit PANSS Skalen assoziiert (Tabelle 3, Seite 85). Patienten, die für den SNP rs951436 heterozygot waren, zeigten in unterschiedlichen PANSS Skalen weniger schwere krankheitsassoziierte Symptome: Gesamtskala ($p = 0.004$), Negativskala ($p = 0.020$), Generelle Psychopathologieskala ($p = 0.004$), wobei die Assoziation mit der Negativskala nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant war (So et al. 2008). Patienten, die für den Marker rs2661319 heterozygot waren, zeigten in der PANSS Gesamtskala auch weniger schwere Symptome ($p = 0.021$), dieser Zusammenhang war nach Korrektur für multiples Testen jedoch nicht mehr signifikant (So et al. 2008). Bezüglich der Assoziation der RGS4-Marker mit den untersuchten neuropsychologischen Variablen fanden die Autoren einen Zusammenhang zwischen dem SNP rs951436 mit dem Subtest „Information“ des WAIS ($p = 0.001$), eine Assoziation, die auch nach Korrektur für multiples Testen signifikant war (So et al. 2008). Patienten die an diesem Locus den Genotyp TT hatten, erbrachten die schlechtesten, solche mit dem Genotyp TG die besten Leistungen (Tabelle 3, Seite 85). Der Haplotyp (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319) mit der Allelsequenz A-T-A-A war auch nach der Korrektur für

multiples Testen mit einer schlechteren Leistung im Untertest „Information“ des WAIS assoziiert (UNPHASED: $p = 0.019$, PHASE: $p = 0.010$, So et al. 2008).

18. Assoziationsstudie von Sanders et al. 2008

Sanders et al. (2008) untersuchten in einer großen kaukasischen Stichprobe bestehend aus 1870 Patienten und 2002 gesunden Kontrollprobanden Marker aus 14 Kandidatengenen für Schizophrenie, unter anderem auch zwölf RGS4-Polymorphismen (rs10917670, rs951436, rs951439, rs2842029, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs10799897, rs2940251, rs7515900, rs10917671, rs12087556). Von den 1870 Patienten erfüllten 1678 die DSM-IV-Kriterien einer Schizophrenie, 192 litten an einer schizoaffektiven Störung (DSM-IV-Kriterien). Die Kontrollen wurden vor Studieneinschluss auf das Vorliegen eigener psychiatrischer Störungen (lifetime) gescreent. Die zwölf untersuchten RGS4-Polymorphismen zeigten keine signifikante Assoziation mit Schizophrenie oder schizoaffektiver Störung, auch nicht nachdem die Analysen nur auf die Gruppe der Patienten mit einer Schizophrenie begrenzt wurden. Zwei Marker wiesen jedoch unkorrigierte nominale p-Werte (nicht nach Bonferronie korrigiert) unter/gleich 0.50 auf: SNP rs2661319 (nominaler p-Wert = 0.048; OR (G-Allel) = 1.10) und der Polymorphismus rs2842030 (nominaler p-Wert = 0.046; OR (T-Allel) = 1.10; Tabelle 2b, Seite 75; Sanders et al. 2008).

19. Assoziationsstudie von Betcheva et al. 2009

In einer bulgarischen Stichprobe untersuchten Betcheva et al. (2009) die Assoziation zwischen Schizophrenie/schizoaffektiver Störung und 202 SNPs aus 59 Genen. Es wurden Gene ausgewählt, für die entweder in der Literatur ein Zusammenhang mit der Erkrankung beschrieben wurde, oder die aufgrund ihrer Lokalisation oder Funktion als positionelle oder funktionelle Kandidatengene gelten können. Unter den 183 erfolgreich genotypisierten SNPs befanden sich auch fünf RGS4-Polymorphismen: rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319 und rs10759 (Betcheva et al. 2009). Die Stichprobe setzte sich aus insgesamt 255 Patienten und 556 gesunden Kontrollprobanden zusammen. Entsprechend den DSM-IV-Kriterien litten 198 Patienten an einer Schizophrenie und 57 an einer schizoaffektiven Störung (Tabelle 2b, Seite 75). Die Kontrollprobanden wurden vor Studieneinschluss auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent (Betcheva et al. 2009). Zunächst wurden die Marker in einer Stichprobe von 185 Patienten und 184 gesunde Kontrollprobanden untersucht. In einem zweiten Sample (70 Patienten und 372 gesunde Kontrollprobanden)

wurden die SNPs untersucht, die in der ersten Stichprobe ein signifikantes Ergebnis ($p < 0.05$) erzielten. Darunter befanden sich auch zwei RGS4-Marker: rs951436 ($p = 0.032$; A-Allel mit Schizophrenie/schizoaffektiver Störung assoziiert) und rs951439 ($p = 0.044$; T-Allel mit Schizophrenie/schizoaffektiver Störung assoziiert). In der zweiten Stichprobe wurden jedoch keine signifikanten Assoziationen der zwei RGS4-SNPs gefunden (rs951436: $p = 0.20$; rs951439: $p = 0.17$), wofür die Autoren einen möglichen Grund in der geringen Stichprobengröße sahen (Betcheva et al. 2009).

Auch in genomweiten Assoziationsstudien (GWAs) wurden RGS4-Polymorphismen untersucht. Bislang wurden sechs GWAs veröffentlicht, die den Zusammenhang zwischen Schizophrenie (bzw. Störungen aus dem schizophrenen Spektrum) und genetischen Markern (darunter auch RGS4-Marker) analysierten. In den Studien von Lencz et al. (2007), Sullivan et al. (2008) und O'Donovan et al. (2008) wurde eine individuelle Genotypisierung durchgeführt. Andere Autoren (Mah et al. 2006, Kirov et al. 2009, Shifman et al. 2008) führten genomweite Assoziationsstudien mit gepoolter DNA durch.

20. Genomweite Assoziationsstudie von Mah et al. 2006

Mah und Kollegen veröffentlichten 2006 eine genomweite Assoziationsstudie mit gepoolter DNA an 320 multizentrisch rekrutierten Patienten europäischer Herkunft und 325 Kontrollprobanden (Tabelle 2c, Seite 76, Mah et al. 2006). Die Patienten erfüllten die DSM-IV-Kriterien einer Schizophrenie ($n = 207$) oder einer schizoaffektiven Störung ($n = 113$). Kontrollprobanden waren Blutspender, die nur dann in die Studie eingeschlossen wurden, wenn ihre Verwandten an keiner neuropsychiatrischen Erkrankung litten oder jemals gelitten hatten (Mah et al. 2006). 25494 SNPs aus ca. 14000 Genen wurden analysiert, wobei unklar bleibt, ob auch RGS4-Marker in die Untersuchungen einbezogen wurden. Die 95 signifikant assoziierten SNPs ($p \leq 0.02$) wurden in die individuelle Genotypisierung aller Studienteilnehmer einbezogen (Mah et al. 2006). Der Marker rs752016 im Intron 11 des PLXNA2-Gens auf Chromosom 1q32 zeigte die höchste Assoziation ($p = 0.006$, OR = 1.49) mit Schizophrenie bzw. schizoaffektiver Störung (Mah et al. 2006). Diesen Befund konnten die Autoren in einer zweiten ethnisch diversifizierten Stichprobe replizieren. In einer Subgruppe bestehend aus 200 kaukasischen Schizophreniepatienten und 230 Kontrollprobanden war der Marker ebenfalls mit der Erkrankung assoziiert ($p = 0.035$, OR = 1.38). Auch in einem Sample lateinamerikanischer Schizophreniepatienten ($n = 111$) und Kontrollen ($n = 123$) wurde ein Zusammenhang des gleichen Markers (rs752016) mit

Schizophrenie gefunden (OR = 1.26), genauso wie in einer Stichprobe asiatischstämmiger Amerikaner mit einer Schizophrenie (n = 63) und 72 Kontrollprobanden (OR = 1.37); wobei diese Zusammenhänge nicht statistisch signifikant waren (Mah et al. 2006). In der Subgruppe der afroamerikanischen Patienten (n = 157) und Kontrollen (n = 180) wies der Marker keinen Zusammenhang zur Erkrankung auf. Die ethnische Herkunft aller Kontrollprobanden konnte nicht detailliert angegeben werden (Mah et al. 2006). In zwei familienbasierten Assoziationsstudien bestehend aus insgesamt 231 Geschwisterpaaren bzw. Multiplexfamilien unterschiedlicher Herkunft wurden insgesamt vier Marker aus dem PLXNA2-Gen untersucht. In einer der beiden Stichproben war der Marker rs841865 mit der Erkrankung assoziiert (p = 0.02, OR = 2.2).

21. Genomweite Assoziationsstudie von Lencz et al. 2007

Lencz et al. untersuchten 178 kaukasische Patienten mit einer Störung aus dem schizophrenen Spektrum und 144 kaukasische gesunde Kontrollprobanden (Lencz et al. 2007). Die Patientengruppe setzte sich aus 158 Patienten mit einer Schizophrenie, 13 Patienten mit einer schizoaffektiven Störung und 7 Patienten mit einer schizophreniformen Störung zusammen (Tabelle 2c, Seite 76), wobei die Diagnosen die jeweiligen DSM-IV Kriterien erfüllten. Ausschlusskriterien für die Kontrollprobanden waren das Vorliegen eigener früherer oder derzeitiger psychischer Erkrankungen einschließlich Substanzabusus (DSM-IV Achse-I-Störungen), die Behandlung mit Psychopharmaka sowie die Existenz derartiger Störungen bei Verwandten ersten Grades (Lencz et al. 2007). Von den etwa 500000 mit Chips der Firma Affymetrix untersuchten Markern erfüllten 439511 SNPs die Qualitätskriterien und wurden in die weiteren Analysen einbezogen. Die Autoren fanden eine Assoziation ($p = 3.7 \times 10^{-7}$) zwischen Störungen aus dem schizophrenen Spektrum und einem bis dahin unbekannten Locus (rs4129148) in der pseudoautosomalen Region in der Nähe des Gens CSF2RA (colony stimulating factor, receptor 2 alpha). Die untersuchten RGS4-Polymorphsimen wiesen keine Assoziation mit Schizophrenie auf (Lencz et al. 2007).

22. Genomweite Assoziationsstudie von Sullivan et al. 2008

Die Stichprobe von Sullivan et al. (2008) setzte sich aus 738 Patienten mit einer Schizophrenie nach DSM-IV-Kriterien (alle Teilnehmer der CATIE Studie) und 733 gesunden Kontrollprobanden zusammen (Tabelle 2c, Seite 76). Die Kontrollen durften nie an einer Schizophrenie, einer schizoaffektiven oder einer bipolaren Störung gelitten haben, auch

das Vorliegen von Wahn und akustischen Halluzinationen bedeutete den Ausschluss aus der Studie. Die Teilnehmer waren unterschiedlicher ethnischer Abstammung (56% europäische Amerikaner, 30% Afroamerikaner, 14% anderer Abstammung). Die Analysen wurden mit Hilfe des 500K Chips von Affymetrix sowie einem individuell gefertigtem 164K Chip durchgeführt. 492900 SNPs entsprachen den Qualitätsanforderungen und wurden in die Auswertung mit einbezogen. Keiner der untersuchten Polymorphismen zeigte eine genomweit signifikante Assoziation mit der Erkrankung, was möglicherweise auch auf die geringe Stichprobengröße zurückzuführen ist (Sullivan et al. 2008).

23. Genomweite Assoziationsstudie von O'Donovan et al. 2008

O'Donovan et al. (2008) führten eine genomweite Assoziationsstudie an 479 kaukasischen Schizophreniepatienten (DSM-IV-Kriterien) und 2937 gesunden, kaukasischen Kontrollprobanden durch. Von den ca. 500000 SNPs (Affymetrix GeneChip 500K) erfüllten 362532 die angesetzten Qualitätskriterien und wurden in die weiteren Untersuchungen einbezogen. Die zwölf Loci, die einen Zusammenhang mit der Schizophrenie zeigten ($p < 1 \times 10^{-5}$), wurden anschließend in einer großen Stichprobe analysiert; unter diesen zwölf Markern befand sich kein RGS4-Polymorphismus. Diese erste in Irland (295 Patienten, 983 Kontrollprobanden), Bulgarien (611 Patienten, 661 Kontrollprobanden) und Deutschland (München; 758 Patienten, 1897 Kontrollprobanden) rekrutierte Replikationsstichprobe setzte sich aus insgesamt 1664 kaukasischen Patienten und 3541 gesunden, kaukasischen Kontrollprobanden zusammen. Die Patienten der ersten Replikationsstichprobe erfüllten alle die DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie, die Kontrollprobanden wurden teilweise vor Studieneinschluss auf das Vorliegen psychischer Erkrankungen gescreent (deutsche Stichprobe/München), teilweise erfolgte kein derartiges Ausschlussverfahren (irische und bulgarische Stichprobe; O'Donovan et al. 2008). In dieser zweiten Analyse konnte der Zusammenhang zwischen sechs der zwölf untersuchten Polymorphismen und der Erkrankung repliziert werden (O'Donovan et al. 2008). Diese sechs Marker wurden anschließend in einem zweiten ebenfalls multizentrisch rekrutierten Replikationssample, bestehend aus insgesamt 4143 Patienten und 6515 Kontrollen, untersucht. Die einzelnen Stichproben stammten aus unterschiedlichen Ländern: Deutschland (Bonn; 735 Patienten, 1036 Kontrollprobanden), US/Australien (1744 Patienten, 1938 Kontrollen), Japan (748 Patienten, 831 Kontrollprobanden), China (1034 Patienten, 1034 Kontrollen) und Israel (741 Patienten, 1517 Kontrollprobanden). Die Patienten litten entsprechend den DSM-IV-Kriterien an einer Schizophrenie (Stichprobe aus Deutschland/Bonn, US/Australien, Japan, China und Israel)

oder einer schizoaffektiven Störung (US/Australischen-Sample $n = 174$). Die Kontrollprobanden wurden bei zwei Stichproben (China, Israel) nicht explizit auf das Vorliegen psychischer Erkrankungen gescreent. In der deutschen Stichprobe (Bonn) und den Samples aus US/Australien und Japan wurde ein derartiges Screening durchgeführt (O'Donovan et al. 2008). Die ethnische Abstammung der zweiten Replikationsstichprobe war gemischt, es wurden sowohl Personen chinesischer, japanischer, europäischer als auch jüdischer Ethnizität in die Analysen eingeschlossen. Für die gesamte Replikationsstichprobe (erste und zweite Replikationsstichprobe) erbrachten die durchgeführten Tests jedoch für fünf der sechs untersuchten SNPs keinen Beweis für Heterogenität. In beiden Replikationsstichproben waren drei Marker (Chromosom 2p32.1, 11p14.1, 16p13.12) mit der Erkrankung assoziiert (O'Donovan et al. 2008).

24. Genomweite Assoziationsstudie von Shifman et al. 2008

In einer Stichprobe aschkenasischer Juden untersuchten Shifman et al. (2008) in einer genomweiten Assoziationsstudie mit gepoolter Genotypisierung (Affymetrix 500K) den Zusammenhang zwischen genetischen Polymorphismen und der Schizophrenie. Dabei interessierte besonders der Unterschied zwischen den Geschlechtern. Daher wurden die zwei DNA-Pools (Patienten vs. Kontrollen) nochmals nach dem Geschlecht unterteilt, so dass vier DNA-Pools entstanden. Das erste Sample setzte sich aus 660 Patienten (419 Männer, 241 Frauen) mit einer Schizophrenie (DSM-IV-Kriterien) und 2771 Kontrollprobanden (1807 Männer, 964 Frauen) zusammen (Tabelle 2c, Seite 76). Die Kontrollen waren Blutspender und wurden ihm Vorfeld der Untersuchung nicht auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent. Aus der Analyse der gepoolten DNA wurden die 194 erfolgversprechendsten SNPs für die individuelle Genotypisierung ausgesucht, die in einer Stichprobe von 745 Patienten und 759 Kontrollprobanden durchgeführt wurde. Die höchste Assoziation ($p = 2.9 \times 10^{-5}$) mit der Erkrankung zeigte der Marker rs7341475, der im vierten Intron des Reelin-Gens auf Chromosom 7 lokalisiert ist (Shifman et al. 2008). Dieser Zusammenhang lag allerdings nur in der Gruppe der untersuchten Frauen vor. In insgesamt vier Replikationsstichproben wurde diese geschlechtsspezifische Assoziation untersucht. Drei Samples setzten sich aus Probanden kaukasischer Ethnizität zusammen (Großbritannien, Irland, USA), die vierte Stichprobe war chinesischer Herkunft. Insgesamt wurden in den Replikationsstichproben 2274 Patienten (768 Frauen, 1506 Männer) und 4401 Kontrollprobanden (2194 Frauen, 2207 Männer) untersucht (Shifman et al. 2008). Die Befunde aus der jüdischen Stichprobe konnten in der Stichprobe aus Großbritannien repliziert

werden, in den anderen Samples war der Marker zwar auch assoziiert, jedoch war dieser Zusammenhang statistisch nicht signifikant (Shifman et al. 2008).

25. Genomweite Assoziationsstudie von Kirov et al. 2009

In einer familienbasierten genomweiten Assoziationsstudie untersuchten Kirov et al. (2009) 605 gesunde Kontrollprobanden, 574 Patienten mit einer Schizophrenie (DSM-IV-Kriterien) sowie alle Eltern der Patienten ($n = 1148$). Alle Teilnehmer waren Bulgarischer Herkunft (Tabelle 2c, Seite 76). Die Kontrollen wurden vor Studieneinschluss nicht explizit auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent. Für die drei DNA-Pools wurden die Allelfrequenzen von ca. 550000 SNPs mit Hilfe von Illumina HumanHap550 geschätzt. 63 SNPs wurden anschließend in einem Sample aus 574 Trios erfolgreich individuell genotypisiert und mit dem TDT analysiert, hierunter befand sich kein RGS4-Polymorphismus. Von den insgesamt 40 assoziierten SNPs ($p < 0.05$) wurde die höchste Assoziation ($p = 1.2 \times 10^{-6}$) für den Marker rs11064768 im CCDC60-Gen auf Chromosom12 berichtet (Kirov et al. 2009).

Tabelle 2a: Darstellung der Ergebnisse von Assoziationsstudien zum Zusammenhang zwischen RGS4-Markern und der Schizophrenie

Studie	Familienbasierte Stichproben	Fall-Kontroll-Stichproben		Ethnizität	mit Schizophrenie assoziierte RGS4 Allele							mit Schizophrenie assoziierter Haplotyp
		Patienten	Kontrollen		rs10917670	rs951436	rs951439	rs2661319	rs2842030	rs10759	rs2063142	
Assoziationsstudien												
Chowdari et al. (2002) (Pittsburgh-Stichprobe)	93 Trios (55 SCZ; 38 SZAD)	93 (55 SCZ; 38 SZAD)	174	kaukasisch	G-Allel (p = 0.055) ¹	G-Allel (p = 0.05) ¹	n.s.	n.s.	-	-	-	G-G-G-G (p = 0.035)
Chowdari et al. (2002) (NIMH-Stichprobe)	39 Trios (SCZ+SZAD) + 30 Geschwisterpaare	-	-	gemischt	A-Allel (p = 0.023) ²	T-Allel (p = 0.011) ²	n.s.	A-Allel (p = 0.033) ²	-	-	-	A-T-A-A (p = 0.016)
Chowdari et al. (2002) (Neu Delhi-Stichprobe)	269 Trios + 72 Geschwisterpaare	-	-	indisch	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	A-T-A-A (p = 0.055)
Williams et al. (2004)	-	709 SCZ	710	kaukasisch	n.s.	T-Allel (p = 0.017)	n.s.	A-Allel (p = 0.038)	-	-	-	x-T-x-A (p = 0.02)
Morris et al. (2004)	-	249 (196 SCZ; 53 SZAD)	231	kaukasisch	G-Allel (p = 0.042) ³	G-Allel (p = 0.082) ³	G-Allel (p = 0.041) ³	n.s.	-	-	-	G-G-G-G (p = 0.044) ³
Chen et al. (2004)	75 Trios + 650 Geschwisterpaare ⁴	-	-	kaukasisch	n.s.	G-Allel (p = 0.0249/ p = 0.1098) ⁵	n.s.	G-Allel (p = 0.0073/ p = 0.0440) ⁵	-	-	-	G-G-x-G (p = 0.0534/ p = 0.0445) ⁵
Cordeiro et al. (2005)	49 Trios	271 SCZ	576	brasilianisch	n.s.	n.s.	n.s.	G-Allel (p = 0.058) ⁶	-	-	-	G-G-G-G (p = 0.1) ⁶
Fallin et al. (2005)	274 Trios (57 SCZ; 217 SZAD)	-	-	aschkenasi- sche Juden	-	-	(p = 0.006) ⁷	-	(p = 0.019) ⁷	-	-	-
Zhang et al. (2005) ⁸	184 Trios + 138 Geschwisterpaare	-	-	chinesisch	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	n.s.

SCZ Schizophreniepatienten; SZAD Patienten mit einer schizoaffektiven Störung; SCZF Patienten mit einer schizophreniformen Störung

n.s. der SNP zeigte keine (tendenziell) signifikante Assoziation mit der Erkrankung

- der SNP/Haplotyp wurde in der Studie nicht untersucht

-x- der SNP fehlt in der Analyse im vier-Marker-Haplotyp

¹ p-Werte beziehen sich auf das familienbasierte Design (Trios)² p-Werte beziehen sich auf die Gruppe der Kaukasier und Teilnehmer anderer Herkunft³ p-Werte beziehen sich auf die Gruppe der Schizophreniepatienten⁴ die Anzahl der Trios und Geschwisterpaare bezieht sich ebenso wie alle dargestellten Ergebnisse auf die Gruppe der „Kern-Schizophrenie“⁵ der erste angegebene p-Wert stammt aus der Analyse mit dem PDT (pedigree disequilibrium tests), der zweite p-Wert aus der Analyse mit dem FBAT (family-based association test)⁶ p-Werte beziehen sich auf das familienbasierte Design (Trios)⁷ die mit Schizophrenie assoziierten Allele wurden bei Fallin et al. (2005) nicht angegeben; p-Werte beziehen sich auf die Gruppe der Schizophreniepatienten⁸ alle Angaben beziehen sich auf die chinesische Stichprobe die von Zhang et al. (2005) untersucht wurde

Tabelle 2b: Darstellung der Ergebnisse von Assoziationsstudien zum Zusammenhang zwischen RGS4-Markern und der Schizophrenie

Studie	Familienbasierte Stichproben	Fall-Kontroll-Stichproben		Ethnizität	mit Schizophrenie assoziierte RGS4 Allele							mit Schizophrenie assoziierter Haplotyp
		Patienten	Kontrollen		rs10917670	rs951436	rs951439	rs2661319	rs2842030	rs10759	rs2063142	
Assoziationsstudien												
Zhang et al. (2005) ⁹	-	580 (SCZ+SZAD)	620	kaukasisch	n.s.	n.s.	A-Allel (p = 0.011) ¹⁰	n.s.	-	-	-	x-T-A-x (p = 0.04) ¹⁰
Sobell et al. (2005)	-	568 (534 SCZ; 34 SZAD)	689	kaukasisch	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	n.s.
Liu et al. (2006)	218 Familien	-	-	taiwanesisch	-	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	n.s.
Guo et al. (2006)	-	288 SCZ	288	chinesisch	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	n.s.
Ishiguro et al. (2007)	-	1918 SCZ	1909	japanisch	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	n.s.
Rizig et al. (2006) & Puri et al. (2007) ¹¹	-	450 SCZ	450	kaukasisch	-	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-
Vilella et al. (2007)	-	589 SCZ	615	kaukasisch	-	-	-	-	-	-	n.s. ¹²	-
Wood et al. (2007)	-	451 (311 SCZ; 140 SZAD)	291	kaukasisch	-	n.s. (T-Allel) ¹³	-	-	-	n.s.	-	-
So et al. (2008)	-	504 SCZ	531	chinesisch	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	G-G-G-G ¹⁴
Sanders et al. (2008)	-	1870 (1678 SCZ; 192 SZAD)	2002	kaukasisch	n.s.	n.s.	n.s.	n.s. (G-Allel) ¹⁵	n.s. (T-Allel) ¹⁶	n.s.	-	n.s.
Betcheva et al. (2009)	-	255 (198 SCZ; 57 SZAD)	556	kaukasisch	n.s.	n.s. (T-Allel) ¹⁷	n.s.	n.s. (A-Allel) ¹⁸	-	n.s.	-	-

⁹ alle Angaben beziehen sich auf die kaukasische Stichprobe die von Zhang et al. (2005) untersucht wurde¹⁰ p-Werte nach Korrektur für multiples Testen¹¹ Rizig et al. (2006) und Puri et al. (2007) untersuchten dieselbe Stichprobe und die gleichen RGS4-Polymorphismen¹² bei Vilella et al. (2007) wurde der SNP rs2063142 nur als Marker des Haplotyps (rs2940251-rs2063142) untersucht¹³ unkorrigierter nominaler p-Wert: 0.0478, begrenzt auf die Stichprobe der Schizophreniepatienten¹⁴ UNPHASED; p = 0.019, PHASE; p = 0.010¹⁵ unkorrigierter nominaler p-Wert: 0.048; OR (G-Allel) = 1.10¹⁶ unkorrigierter nominaler p-Wert: 0.046; OR (T-Allel) = 1.10¹⁷ erste Stichprobe (n = 369): p-Wert: 0.032; zweite Stichprobe (n = 442) p-Wert: 0.20; der Übersicht halber werden in dieser Tabelle die Allele entsprechend der anderen Studien angegeben¹⁸ erste Stichprobe (n = 369): p-Wert: 0.044; zweite Stichprobe (n = 442) p-Wert: 0.17; der Übersicht halber werden in dieser Tabelle die Allele entsprechend der anderen Studien angegeben

Tabelle 2c: Darstellung der Ergebnisse von Metaanalysen und genomweiten Assoziationsstudien bezogen auf RGS4-Marker

Studie	Familienbasierte Stichproben	Fall-Kontroll-Stichproben		Ethnizität	mit Schizophrenie assoziierte RGS4 Allele						mit Schizophrenie assoziierter Haplotyp	
		Patienten	Kontrollen		rs10917670	rs951436	rs951439	rs2661319	rs2842030	rs10759		rs2063142
Metaanalysen												
Guo et al. (2006)	-	3062 (SCZ+SZAD)	3564	gemischt	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-
Li & He (2006)	211 Trios/Geschwister- paare	1176 SCZ	1517	gemischt	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-
Talkowski et al. (2006)	2160 Familien	3486 (SCZ+SZAD)	3755	gemischt	n.s.	T-Allel (p = 0.01)	A-Allel (p = 0.05)	n.s.	-	-	-	G-G-G-G A-T-A-A (p = 0.004)
Genomweite Assoziationsstudien mit individueller Genotypisierung (GWA) ¹⁹												
Lenz et al. (2007)	-	178 (158 SCZ; 13 SZAD; 7 SCZF)	144	kaukasisch	-	n.s.	n.s.	-	-	n.s.	n.s.	-
Sullivan et al. (2008)	-	738 SCZ	733	gemischt	-	n.s.	n.s.	-	-	n.s.	n.s.	-
O'Donovan et al. (2008)	-	7308 (SCZ+SZAD)	12834	gemischt	-	n.s.	n.s.	-	-	n.s.	n.s.	-
Genomweite Assoziationsstudien mit gepoolter Genotypisierung (GWA) ¹⁹												
Mah et al. (2006) ²⁰	231 Geschwisterpaare/ Multiplexfamilien	320 (207 SCZ; 113 SZAD) ²¹	325 ²¹	gemischt	-							-
Shifman et al. (2008)	-	660 SCZ ²¹	2771 ²¹	aschkenasi- sche Juden ²¹	-	n.s.	n.s.	-	-	n.s.	n.s.	-
Kirov et al. (2008)	574 Trios (1148 Eltern)	-	605	kaukasisch	-	-	n.s.	n.s.	-	n.s.	n.s.	-

¹⁹ in dieser Übersichtstabelle werden alle RGS4-SNPs die auf den jeweils verwendeten Chips (Affymetrix, Illumina) enthalten sind, als untersucht gekennzeichnet, ohne dass sichergestellt werden konnte, ob die RGS4-Marker die jeweils angesetzten Qualitätskriterien erfüllten und in die Analysen einbezogen wurden

²⁰ Mah et al. (2006) analysierten 25494 SNPs aus 14000 Genen; jedoch ist nicht bekannt, ob und ggf. welche RGS4-Marker in die Untersuchung einbezogen wurden

²¹ Die Anzahl der Patienten/Kontrollprobanden sowie deren Ethnizität beziehen sich auf die erste untersuchte Stichprobe

2.3.5 RGS4 und klinische Phänotypen/Endophänotypen

Die insgesamt eher inkonsistente Ergebnislage in Bezug auf krankheitsassoziierte Allele und Haplotypen der Assoziationsstudien wird zum Teil auch auf das Vorhandensein von Subgruppen innerhalb der phänotypisch heterogenen Gruppe der Schizophreniepatienten zurückgeführt. Dabei wird angenommen, dass den verschiedenen Subgruppen unterschiedliche neurobiologische Pathologien zugrunde liegen könnten. Daher gibt es Bemühungen, die phänotypisch heterogene Gruppe der schizophrenen Patienten nach klinischen Gesichtspunkten zu unterteilen; dies in der Hoffnung, hierdurch die zugrunde liegenden neuronalen Mechanismen leichter zu ergründen. Neben dem Konzept der Endophänotypen gibt es weitere Phänotypen (z. B. Defizit- vs. Nichtdefizitschizophrenie, Schweregrad der schizophrenieassoziierten Symptomatik, Neuroleptika-Response) anhand derer eine Subtypisierung der phänotypisch heterogenen Gruppe der Schizophreniepatienten vorgenommen werden kann.

Das Konzept der Defizit- vs. Nichtdefizit-Schizophrenie bietet eine mögliche Subtypisierung der Schizophreniepatienten. Defizit-Schizophrenie ist definiert als eine Subgruppe des Phänotyps Schizophrenie, für die ein fortdauerndes Vorliegen von nicht sekundären Negativsymptomen charakteristisch ist (Carpenter et al. 1988). Zwei Arbeitsgruppen (Bakker et al. 2007, Réthelyi et al. 2010) führten Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen RGS4-Markern und diesen klinischen Subgruppen durch.

Bakker et al. (2007) führten eine Assoziationsstudie an einer niederländischen Stichprobe bestehend aus 273 Patienten und 580 Kontrollprobanden durch. Die Autoren tätigten keine Angaben darüber, ob die Kontrollen im Vorfeld der Untersuchung nach psychiatrischen Erkrankungen gefragt wurden. Die Patienten erfüllten alle die DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie und wurden mit Hilfe des Schedule for Deficit Syndrome (SDS, Kirkpatrick et al. 1989) in zwei Subgruppen unterteilt: Patienten mit Defizit-Schizophrenie (n = 146) und solche mit Nichtdefizit-Schizophrenie (n = 127). Untersucht wurden Marker aus vier Kandidatengenomen für Schizophrenie, darunter auch zwei RGS4-SNPs (rs10917670, rs2661319, Tabelle 3, Seite 85). Die Autoren fanden eine Assoziation des G-Allels (p = 0.033) sowie der Genotypen GA und GG im SNP rs10917670 und Nichtdefizit-Schizophrenie, wohingegen kein Zusammenhang (p = 0.79) des Markers mit der Defizit-Schizophrenie feststellbar war (Bakker et al. 2007). Der zwei-Marker-Haplotyp rs10917670-

rs2661319 war ebenfalls mit der Subgruppe der Patienten mit Nichtdefizitsyndrom ($p = 0.0022$) und der Gesamtgruppe der Schizophreniepatienten ($p = 0.025$) assoziiert, wobei der Haplotyp mit der Allelsequenz G-G bei Patienten mit einer Nichtdefizit-Schizophrenie häufiger vorkamen ($p = 0.020$). Aus ihren Ergebnissen schlussfolgerten die Autoren, dass das RGS4-Gen eher mit der Nichtdefizit-Schizophrenie assoziiert sein könnte, obwohl die gefundenen Assoziationen nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant waren (Bakker et al. 2007).

Réthylyi et al. (2010) versuchten die Ergebnisse von Bakker et al. (2007) zu replizieren und untersuchten den Zusammenhang zwischen den zwei Subgruppen Nichtdefizit-Schizophrenie und Defizit-Schizophrenie sowie dem Schweregrad der Symptome und mehreren Kandidatengen für Schizophrenie unter anderem auch dem RGS4-Gen. Die Stichprobe setzte sich aus 280 Patienten mit einer Schizophrenie (DSM-IV-Diagnose) und 230 gesunden Kontrollprobanden zusammen, die vor Studieneinschluss auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent wurden. Alle Studienteilnehmer stammten aus Ungarn und waren kaukasischer Herkunft. Die Patienten wurden mit Hilfe des Schedule for Deficit Syndrome (SDS, Kirkpatrick et al. 1989) in Defizit-Patienten ($n = 153$) und Nichtdefizit-Patienten ($n = 127$) unterteilt (Réthylyi et al. 2010). Weder die untersuchten RGS4-Polymorphismen (rs10917670, rs2661319) noch der daraus gebildete zwei-Marker-Haplotyp waren mit einer Subgruppe (Defizit-Schizophrenie vs. Nichtdefizit-Schizophrenie) oder der Gesamtgruppe der Schizophreniepatienten assoziiert (Tabelle 3, Seite 85). Bezüglich des Zusammenhangs der RGS4-SNPs mit dem Schweregrad der Symptome erfasst mit der Positive and Negative Symptoms Scale (PANSS, Kay et al. 1987) stellten die Autoren eine Assoziation (Effektstärke = -0.31) zwischen dem G-Allel des Marker rs10917670 und dem „depressiven Faktor“ der PANSS fest (Réthylyi et al. 2010).

Weitere Autoren (Kampman et al. 2006, Campbell et al. 2008, Lane et al. 2008) untersuchten den Zusammenhang zwischen RGS4-Polymorphismen und dem Schweregrad der schizophrenieassoziierten Symptomatik und/oder der Neuroleptika-Response. In einer finnischen Stichprobe von 219 Schizophreniepatienten (DSM-IV-Diagnose) und 389 Kontrollprobanden untersuchten Kampman et al. (2006) den Zusammenhang zwischen dem RGS4-Polymorphismus rs951436 und der Erkrankung sowie dem Ersterkrankungsalter der Patienten. Die Kontrollprobanden waren gesunde Blutspender, wobei die Autoren keine Angaben darüber tätigten, ob Personen mit psychiatrischen Erkrankungen ausgeschlossen

wurden. Es wurden keine Assoziation mit dem RGS4-Marker (Allele und Genotypen) gefunden - weder mit Schizophrenie, noch mit dem Erkrankungsalter. Weiterhin analysierten die Autoren in einer Subgruppe schizophrener Patienten ($n = 93$) den Einfluss des RGS4-Markers rs951436 auf die Neuroleptika-Response (Tabelle 3, Seite 85). Hierzu unterteilten sie die Patientengruppe in eine Subgruppe von Patienten, die auf konventionelle Neuroleptika gut reagierte ($n = 43$) und eine zweite Subgruppe von Patienten ($n = 50$), die mit Clozapin behandelt wurde, da sie auf mindestens zwei konventionelle Neuroleptika nicht reagierte. Der untersuchte RGS4-SNP war mit der Neuroleptika-Response nicht assoziiert (Kampman et al. 2006).

In einer ethnisch diversifizierten Gruppe bestehend aus 678 Schizophreniepatienten (allesamt Teilnehmer der CATIE-Studie) untersuchten Campbell et al. (2008) den Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Symptome und der Neuroleptika-Response und acht RGS4-Polymorphismen (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142, rs2841959 und rs2841977). Die acht RGS4-Marker waren auf zwei LD-Blöcke verteilt: Die SNPs rs951436, rs951439, rs2661319 und rs2842030 waren auf dem ersten LD-Block lokalisiert, die Marker rs10759, rs2063142, rs2841959 und rs2841977 auf dem zweiten (Campbell et al. 2008). Die Patienten waren zu 29% afrikanischer Herkunft ($n = 198$), 59% ($n = 397$) stammten aus Europa und 12% ($n = 83$) gaben eine andere Ethnizität an (Campbell et al. 2008). Der Schweregrad der vorliegenden Symptomatik wurde vor der Neuroleptikabehandlung (baseline) und zu mehreren Zeitpunkten während der Behandlung mit der Positive and Negative Symptoms Scale (PANSS, Kay et al. 1987) erfasst. Die Genotypen der beiden RGS4-Marker rs2661319 ($p = 0.049$) und rs2842030 ($p = 0.015$) waren in der Gesamtgruppe der Schizophreniepatienten mit dem Schweregrad der vorliegenden Symptomatik vor Behandlungsbeginn (baseline) assoziiert, wobei Personen mit dem Genotyp TT im Marker rs2661319 und mit dem Genotyp GG im Marker rs2842030 einen höheren Schweregrad an Symptomen im PANSS zeigten (Tabelle 3, Seite 85). Der vier-Marker-Haplotyp (rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030) mit der Allelsequenz A-C-T-G war in der Gruppe der afrikanischstämmigen Patienten ($p = 0.017$) und in der kaukasischen Patientengruppe ($p = 0.048$) mit dem Schweregrad der Symptome vor Behandlungsbeginn (baseline) assoziiert; nach Korrektur für multiples Testen, waren diese Zusammenhänge jedoch statistisch nicht mehr signifikant (Campbell et al. 2008).

Bezüglich der Neuroleptika-Response fanden die Autoren in der Gruppe der afrikanischen Schizophreniepatienten einen Zusammenhang zwischen dem Genotyp TT im Marker

rs951439 und einer schlechteren Response (PANSS Gesamtskala: $p = 0.024$, PANSS Positivskala: $p = 0.037$, PANSS Negativskala: $p = 0.049$). Ebenfalls in der Gruppe der afrikanischen Patienten wurde eine Assoziation zwischen einer schlechteren Neuroleptika-Response (PANSS Positivskala: $p = 0.023$) und dem Genotypen GG im Marker rs2842030 gefunden (Tabelle 3, Seite 85, Campbell et al. 2008).

Lane et al. (2008) untersuchten den Zusammenhang zwischen vier RGS4-Polymorphismen (rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319) und der klinischen Symptomatik sowie der Respons auf ein atypisches Neuroleptikum (Risperidon) in einer Stichprobe von 120 akut kranken Schizophreniepatienten (DSM-IV-Kriterien) chinesischer Herkunft. Die Patienten wurden im Vorfeld der Untersuchung nie mit einem Atypikum behandelt und bekamen im Rahmen der Studie eine Behandlung mit Risperidon für höchstens 42 Tage. Die Einschätzung der Neuroleptika-Response wurde anhand einer Beurteilung der sozialen Funktionstüchtigkeit sowie einer Erhebung der klinischen Symptomatik (erfasst mit dem PANSS, Kay et al. 1987) zu zwei Zeitpunkten (vor Behandlungsbeginn und nach 42 Tagen) vorgenommen. Die Autoren berichten eine Assoziation ($p = 0.002$) zwischen dem Genotypen AA im SNP rs951439 und einer schlechteren sozialen Funktionstüchtigkeit vor Behandlungsbeginn (Lane et al. 2008). Von der Behandlung mit Risperidon profitierten die Patienten in unterschiedlichem Maße: Der Genotyp GG im SNP rs10917670 sowie im SNP rs2661319 war mit einer geringeren Verbesserung im sozialen Funktionsbereich assoziiert (rs10917670: $p = 0.001$, rs2661319: $p = 0.008$); bei Personen mit dem Genotyp GG im Marker rs2661319 wurde darüber hinaus auch eine geringere Besserung ($p = 0.001$) der klinischen Symptomatik (PANSS) beobachtet (Tabelle 3, Seite 85). Nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen waren die Zusammenhänge jedoch nicht mehr signifikant. Aus diesen Ergebnissen schlussfolgerten die Autoren, dass RGS4 sowohl auf die klinische Symptomatik der Schizophrenie als auch auf die Behandlungsresponse (Risperidon) einen Einfluss haben könnte (Lane et al. 2008). Inwieweit diese Befunde, die an einer Stichprobe chinesischer Schizophreniepatienten erhoben wurden, auch auf Patienten anderer Herkunft übertragbar sind, ist derzeit nicht geklärt.

Das Konzept der Endophänotypen bietet ebenfalls eine Möglichkeit, die heterogene Gruppe der Schizophreniepatienten in Subgruppen zu unterteilen. Bisher wurden fünf Studien veröffentlicht, die den Zusammenhang zwischen RGS4-Polymorphismen und physiologischen bzw. neuropsychologischen Endophänotypen untersuchten.

Prasad et al. (2005) untersuchten in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie 30 Patienten, welche die DSM-IV-Kriterien einer Schizophrenie oder einer schizoaffektiven Störung erfüllten. Alle Patienten waren erstmals erkrankt und nicht mit Neuroleptika vorbehandelt. Das Kontrollprobandenkollektiv setzte sich aus 27 gesunden Probanden zusammen, die ebenso wie die Patienten europäisch-amerikanischer Herkunft waren. Die Autoren untersuchten den Zusammenhang zwischen vier RGS4-SNPs (rs10917670, rs951436, rs951439 und rs2661319) und dem Volumen des dorsolateralen Präfrontalkortex. In der Gesamtgruppe der untersuchten Probanden (Patienten und Kontrollen) wurden signifikante Assoziationen zwischen dem Volumen des rechten und linken dorsolateralen Präfrontalkortex (DLPFC) und zwei RGS4-Markern gefunden, die auch nach der Korrektur für multiples Testen signifikant blieben (rs951436: linker DLPFC: $p = 0.012$, rechter DLPFC: $p = 0.072$; rs2661319: linker DLPFC: $p = 0.012$, rechter DLPFC: $p = 0.084$, Tabelle 3, Seite 85). Im Vergleich zu Personen mit dem Genotyp GG im Marker rs951436 wurde bei Teilnehmern mit dem Genotyp TT in diesem Marker ein um ca. 20% reduziertes Volumen in beiden Teilen des dorsolateralen Präfrontalkortex gefunden (linker DLPFC: $p = 0.00004$, rechter DLPFC: $p = 0.001$), ebenso wie bei Personen mit dem Genotyp TG in diesem SNP (linker DLPFC: $p = 0.002$, rechter DLPFC: $p = 0.009$). Verglichen mit Personen mit dem Genotyp GG im Marker rs2661319 fanden die Autoren bei Teilnehmern mit dem Genotyp AA in diesem Marker ein um ca. 20% reduziertes Volumen in beiden Teilen des DLPFC (linker DLPFC: $p = 0.0001$, rechter DLPFC: $p = 0.002$), ebenso wie bei Personen mit dem Genotyp AG in diesem SNP (linker DLPFC: $p = 0.002$, rechter DLPFC: $p = 0.007$).

Bei Betrachtung der beiden Gruppen (Patienten vs. Kontrollen) fanden die Autoren bei den Patienten, nicht aber bei den Kontrollprobanden Assoziationen des DLPFC Volumen mit den Markern rs951436 und rs2661319, die auch nach Korrektur für multiples Testen signifikant waren. Patienten die nicht homozygot für das G-Allel an diesen Loci waren, hatten ein um ca. 25% reduziertes Volumen im linken und rechten DLPFC (rs951436: linker DLPFC: $p = 0.0042$, rechter DLPFC: $p = 0.012$; rs2661319: linker und rechter DLPFC: $p = 0.012$, Prasad et al. 2005). Verglichen mit Patienten mit dem Genotyp GG im Marker rs951436 wurde bei Patienten mit dem Genotyp TT in diesem SNP ein reduziertes Volumen in beiden Teilen des dorsolateralen Präfrontalkortex gefunden (linker DLPFC: $p = 0.0002$, rechter DLPFC: $p = 0.0004$), ebenso wie bei Patienten mit dem Genotyp TG an diesem Locus (linker DLPFC: $p = 0.006$, rechter DLPFC: $p = 0.018$). Im Vergleich zu Patienten mit dem Genotyp GG im SNP rs2661319 fanden Prasad et al. bei Patienten mit dem Genotyp AA an diesem Locus ein

reduziertes Volumen in beiden Teilen des DLPFC (linker DLPFC: $p = 0.0004$, rechter DLPFC: $p = 0.001$), ebenso wie bei Patienten mit dem Genotyp AG in diesem SNP (linker DLPFC: $p = 0.006$, rechter DLPFC: $p = 0.019$). Homozygote T-Allel-Träger im SNP rs10917670 zeigten ebenfalls ein um ca. 26% reduziertes Volumen des rechten, nicht aber des linken dorsolateralen Präfrontalkortex, wenn sie mit den homozygoten Trägern des C-Allels verglichen wurden ($p = 0.0012$, Tabelle 3, Seite 85). Da in dieser Studie erkrankte, Neuroleptika-naive Patienten untersucht wurden, schlussfolgerten die Autoren, dass die beobachteten Zusammenhänge mit den RGS4-Polymorphismen nicht auf die Chronizität der Erkrankung oder eine Neuroleptikabehandlung zurückgeführt werden könnten (Prasad et al. 2005).

Buckholtz et al. (2007) untersuchten mit Hilfe bildgebender Verfahren (fMRT) den Effekt des SNP rs951436 des RGS4-Gens auf die funktionelle Aktivierung und Konnektivität während einer Arbeitsgedächtnisaufgabe bei gesunden Kontrollprobanden europäischer Herkunft. Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme waren unter anderem: Das Vorliegen psychiatrischer, relevanter neurologischer und somatischer Erkrankungen, Alkohol- oder Drogenabusus in den letzten zwölf Monaten vor der Untersuchung sowie ein IQ unter 70. Analysiert wurden die fMRT Daten von 94 sowie die strukturellen MRT Daten von 106 Probanden, wobei von 49 Probanden sowohl fMRT als auch strukturelle MRT Daten vorlagen. In beiden Stichproben waren die einzelnen Genotyp-Gruppen nach Alter, Geschlecht, Schuljahre, IQ - und in der fMRT-Gruppe nach der Testleistung im n-back (Arbeitsgedächtnistest) gematched (Buckholtz et al. 2007). Das A-Allel an diesem Locus war mit einer veränderten neuronalen Response bei der Arbeitsgedächtnisaufgabe assoziiert. Im Vergleich zu homozygoten C-Allel-Trägern war bei A-Allel-Trägern eine Hypoaktivität im rechten Temporalkortex, dem rechten ventralen Präfrontalkortex und dem rechten Caudatum sowie eine Hyperaktivität im linken ventralen Präfrontalkortex zu beobachten. Darüber hinaus zeigten A-Allel-Träger eine beeinträchtigte Konnektivität, jedoch nur zwischen den in das Arbeitsgedächtnis-Netzwerk involvierten Gehirnarealen. Bezüglich einiger anderen Areale wurde sogar eine gesteigerte Konnektivität festgestellt: Das A-Allel war mit einer erhöhten Konnektivität des rechten ventralen Präfrontalkortex mit dem medialen Präfrontalkortex, dem superioren temporalen Gyrus, dem posterioren Cingulus und dem parahippocampalen Gyrus sowie einer erhöhten Konnektivität der linken ventralen präfrontalen Gebiete (dorsolateraler Präfrontalkortex und posteriorer Parietalkortex) assoziiert (Buckholtz et al. 2007). Weiterhin fanden die Autoren bei A-Allel-Trägern eine Reduktion der grauen Hirnsubstanz im rechten

(nicht aber im linken) ventrolateralen Präfrontalkortex, dem Thalamus und dem rechten superioren temporalen Gyrus. Auch bezüglich der weißen Hirnsubstanz wurde bei A-Allel-Trägern eine Reduktion im rechten ventralen Präfrontalkortex gefunden. Diese strukturellen und funktionellen Befunde spiegelten sich auch in dem Ergebnis wieder, dass das A-Allel mit einer langsameren Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit (im Sinne einer erhöhten Reaktionszeit im n-back) assoziiert war (Tabelle 3, Seite 85). Aufgrund dieser Befunde schlussfolgern die Autoren, dass RGS4 auf die funktionellen und strukturellen Aspekte des Gehirns (Gesunder) einen Einfluss hat und ein mögliches Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie sein könnte (Buckholtz et al. 2007).

Die Studie von So et al. (2008) wurde bereits ausführlich beschrieben. Zusammengefasst fanden die Autoren einen Zusammenhang zwischen den homozygoten Genotypen des SNP rs951436 (TT, GG) und einem erhöhten Schweregrad der klinischen Symptomatik (PANSS). Der homozygote Genotyp TT im Marker rs951436 war auch mit einer schlechteren Leistung im Untertest „Information“ des WAIS assoziiert, ebenso wie der Haplotyp (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319) mit der Allelsequenz A-T-A-A (Tabelle 3, Seite 85, So et al. 2008).

In einer Stichprobe 2243 griechischer Rekruten der Luftwaffe (Alter 18-24) untersuchten Stefanis et al. (2008) den Zusammenhang zwischen vier RGS4-Markern (rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319) und daraus gebildeten Haplotypen und kognitiven Funktionen sowie schizotypischen Persönlichkeitsmerkmalen. Die Autoren tätigten keine Angaben über mögliche Ausschlusskriterien (z.B. psychiatrische Erkrankungen) für die Studienteilnehmer (Stefanis et al. 2007, 2008). Mit dem Schizotypal Personality Questionnaire (SPQ, Raine 1991) wurden Persönlichkeitsmerkmale erfasst, die im Rahmen einer schizotypischen Persönlichkeitsstörung vorliegen. Die Autoren untersuchten mehrere Endophänotypen, bei denen der präfrontale Kortex eine wichtige Rolle spielt, unter anderem verbales und räumliches Arbeitsgedächtnis (verbale und räumliche Version einer n-back Aufgabe, Gevins et al. 1996) und Antisakkaden (Smyrnis et al. 2003). Probanden, die in den einzelnen Aufgaben schlechte Ergebnisse erzielten - beispielsweise drei von fünf 2-back Aufgaben in der verbalen oder räumlichen Version des Tests nicht lösten -, wurden ebenso aus der Analyse der Ergebnisse ausgeschlossen, wie Personen, deren Antworten im Persönlichkeitsfragebogen nicht valide erschienen (Stefanis et al. 2008). Die Autoren berichten eine Assoziation ($p = 0.031$) zwischen dem RGS4-Marker rs951436 und eines

Aspekts (negativer Faktor) der schizotypischen Persönlichkeit. Das T-Allel in SNP rs951436 ($p = 0.009$) und das A-Allel in SNP rs2661319 ($p = 0.039$) waren mit einer Erhöhung des negativen Faktors des SPQ assoziiert (Stefanis et al. 2008). Das A-Allel im Marker rs2661319 war auch mit einer erhöhten Fehlerzahl in einer Antisakkaden-Aufgabe assoziiert ($p = 0.028$, Tabelle 3, Seite 85). Die genannten p-Werte sind nicht für multiples Testen korrigiert. Die Haplotypenanalyse erbrachte eine tendenzielle Assoziation des Haplotypen (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319) mit dem räumlichen Arbeitsgedächtnis ($p = 0.07$). Verglichen mit Personen, die den Haplotyp G-G-G-G hatten, zeigten Probanden mit dem Haplotyp G-T-G-A tendenziell bessere Leistungen im Bereich des räumlichen Arbeitsgedächtnisses (Stefanis et al. 2008).

Prasad et al. (2009) untersuchten in einer Stichprobe von 31 kaukasischen (Amerikaner europäischer Herkunft) Multiplexfamilien (327 Personen) mit zwei Erstgradangehörigen die an Schizophrenie litten den Zusammenhang zwischen sieben SNPs des RGS4-Gens (rs10917670, rs951439, rs28757216, rs28757217, rs6427711, rs2661319 und rs10799897) und acht kognitiven Funktionen: Abstraktionsvermögen/mentale Flexibilität, räumliches Gedächtnis, Aufmerksamkeit, „räumliche Verarbeitung“ (spacial processing), verbales Gedächtnis, sensomotorische Fertigkeit, „face memory“ und emotionale Verarbeitung. Für jede der acht Kognitionen wurden Schnelligkeit und Genauigkeit sowie die daraus abgeleitete Effizienz der Durchführung erfasst. In dieser Studie waren die SNPs rs10917670 und rs951439 signifikant mit der Schnelligkeit von „face memory“ assoziiert ($p = 0.0003$ für beide SNPs), dies auch nach Bonferroni-Korrektur ($p = 0.039$, Tabelle 3, Seite 85). Der Polymorphismus rs6427711 war signifikant mit der Schnelligkeit von „face memory“ assoziiert ($p = 0.005$). Auch zwischen der Effizienz von „face memory“ und den beiden SNPs rs10917670 und rs951439 waren signifikante Zusammenhänge ($p = 0.03$ für beide SNPs) feststellbar (Prasad et al. 2009). Mit der Effizienz des verbalen Gedächtnisses zeigten drei Polymorphismen einen signifikanten Zusammenhang: rs10917670 ($p = 0.02$), rs951439 ($p = 0.02$) und rs28757217 ($p = 0.03$), jedoch nicht nach Korrektur für multiples Testen. Weiterhin wurden signifikante Assoziationen für den SNP rs28757217 und die Schnelligkeit von Abstraktionsvermögen/mentale Flexibilität ($p = 0.02$) und den Polymorphismus rs2661319 und Genauigkeit des räumlichen Gedächtnisses ($p = 0.02$) berichtet, wobei beide Assoziationen nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant waren (Prasad et al. 2009).

Tabelle 3: Darstellung der Ergebnisse von Assoziationsstudien zum Zusammenhang zwischen RGS4-Markern und klinischen Phänotypen/Endophänotypen

Studie	Fall-Kontroll-Stichproben		Ethnizität	mit Phänotypen assoziierte RGS4 Allele/Genotypen							mit Phänotypen assoziierter Haplotyp
	Patienten	Kontrollen		rs10917670	rs951436	rs951439	rs2661319	rs2842030	rs10759	rs2063142	
Defizit- vs. Nichtdefizit-Schizophrenie (angegeben sind mit Nichtdefizit-Schizophrenie assoziierte Allele, Genotypen und Haplotypen)											
Bakker et al. (2007)	273 SCZ	580	kaukasisch	G-Allel (p = 0.033) GA, GG	-	-	n.s.	-	-	-	G-x-x-G (p = 0.020)
Réthelyi et al. (2010)	280 SCZ	230	kaukasisch	n.s.	-	-	n.s.	-	-	-	n.s.
Schweregrad der schizophrenieassoziierten Symptomatik (PANSS)											
Campbell et al. (2008)	678 SCZ	-	gemischt	-	n.s.	n.s.	TT ¹ (p = 0.049)	GG ¹ (p = 0.015)	n.s.	n.s.	n.s.
Lane et al. (2008)	120 SCZ	-	chinesisch	n.s.	n.s.	AA ² (p = 0.002)	n.s.	-	-	-	-
So et al. (2008)	504 SCZ	531	chinesisch	n.s.	TT, GG ³ (p = 0.004)	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-
Réthelyi et al. (2010)	280 SCZ	230	kaukasisch	G-Allel ⁴ (Effektstärke = -0.31)	-	-	n.s.	-	-	-	n.s.
Neuroleptika-Response											
Kampman et al. (2006)	219 SCZ	389	kaukasisch	-	n.s.	-	-	-	-	-	-
Campbell et al. (2008)	678 SCZ	-	gemischt	-	n.s.	TT ⁵	n.s.	GG ⁶	n.s.	n.s.	n.s.
Lane et al. (2008)	120 SCZ	-	chinesisch	GG ⁷ (p = 0.001)	n.s.	n.s.	GG ⁸ (p = 0.008/ p = 0.001)	-	-	-	-
Endophänotypen											
Prasad et al. (2005)	30 SCZ+SZAD	27	kaukasisch	TT ⁹ (p = 0.0012)	TT, TG ¹⁰ (p = 0.012/ p = 0.072)	n.s.	AA, AG ¹⁰ (p = 0.012/ p = 0.084)	-	-	-	-
Buckholtz et al. (2007)	-	106 (MRT) 94 (fMRT)	kaukasisch	-	A-Allel ¹¹	-	-	-	-	-	-
So et al. (2008)	504 SCZ	531	chinesisch	n.s.	TT ¹² (p = 0.001)	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	A-T-A-A ¹² (p = 0.019)
Stefanis et al. (2008)	-	2243	kaukasisch	n.s.	n.s.	n.s.	A-Allel ¹³ (p = 0.028)	-	-	-	G-G-G-G ¹⁴ (p = 0.07)
Prasad et al. (2009) ¹⁵			kaukasisch	(p = 0.039/ p = 0.03) ¹⁶ (p = 0.02) ¹⁷	-	(p = 0.039/ p = 0.03) ¹⁶ (p = 0.02) ¹⁷	(p = 0.02) ¹⁸	-	-	-	-

SCZ Schizophreniepatienten; SZAD Patienten mit einer schizoaffektiven Störung
n.s. der SNP zeigte keine (tendenziell) signifikante Assoziation mit der Erkrankung
- der SNP/Haplotyp wurde in der Studie nicht untersucht

-x- der SNP fehlt in der Analyse im vier-Marker-Haplotyp

¹ die Genotypen waren in der Gesamtgruppe mit einem erhöhten Schweregrad der Symptomatik (PANSS) assoziiert

² der Genotyp AA ist mit einer schlechteren sozialen Funktionsfähigkeit assoziiert

³ die homozygoten Genotypen waren mit einem erhöhten Schweregrad der Symptomatik (PANSS) assoziiert, der unkorrigierte p-Wert bezieht sich auf die PANSS Gesamtskala

⁴ G-Allel assoziiert mit dem „depressiven Faktor“ der PANSS

⁵ die Genotypen TT bzw. GG waren in der afrikanischen Stichprobe assoziiert mit einer schlechteren Neuroleptika-Response

⁷ der Genotyp GG war mit einer geringeren Verbesserung im sozialen Funktionsbereich (Neuroleptika-Response) assoziiert

⁸ der Genotyp GG war mit einer geringeren Verbesserung im sozialen Funktionsbereich und einer geringeren Besserung der klinischen Symptomatik (Neuroleptika-Response) assoziiert

⁹ der Genotyp TT war in der Patientengruppe mit einem reduzierten Volumen des rechten dorsolateralen Präfrontalkortex (DLPFC) assoziiert

¹⁰ die angegebenen Genotypen waren in der Gesamtgruppe sowie in der Patientengruppe (hier nicht dargestellt) mit einem reduzierten Volumen des DLFC assoziiert, der erste p-Wert ist die Assoziation mit dem Volumen des linken DLPFC, der zweite die Assoziation mit dem Volumen des rechten DLPFC

¹¹ das A-Allel war assoziiert mit veränderter neuronaler Response, selektiv beeinträchtigter Konnektivität, Reduktion der grauen und weißen Hirnsubstanz sowie einer verlangsamten Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit

¹² TT und A-T-A-A waren mit einer schlechteren Leistung im Untertest „Information“ des WAIS assoziiert

¹³ das A-Allel war assoziiert mit einer erhöhten Fehlerzahl in einer Antisakkaden-Aufgabe

¹⁴ G-G-G-G assoziiert mit einer schlechteren Leistung in der räumlichen Arbeitsgedächtnisaufgabe

¹⁵ Prasad et al. (2009) untersuchten 31 Multiplexfamilien (327 Personen)

¹⁶ die mit der Schnelligkeit (erster p-Wert, p-Werte nach Korrektur für multiples Testen) und Effizienz (zweiter p-Wert) von „face memory“ assoziierten Allele wurden nicht angegeben

¹⁷ die mit der Effizienz des verbalen Gedächtnisses assoziierten Allele wurden nicht angegeben, p-Werte nicht für multiples Testen korrigiert

¹⁸ die mit der Genauigkeit des räumlichen Gedächtnisses assoziierten Allele wurden nicht angegeben, p-Wert nicht für multiples Testen korrigiert

3 Fragestellung

Obwohl eine starke genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie angenommen wird, sind die genetischen Risikofaktoren der Erkrankung immer noch ungeklärt. Fall-Kontroll-Assoziationsstudien stellen eine sensitive molekulargenetische Methode dar, um bei komplexen Erkrankungen nach Suszeptibilitätsgenen mit kleinen Effekten zu suchen.

Das RGS4-Gen ist auf Chromosom 1 in einer Region lokalisiert, die mit der Schizophrenie gekoppelt zu sein scheint. Zudem wurde in mehreren unabhängigen Studien bei Schizophreniepatienten eine signifikant reduzierte Expression des RGS4-Gens in unterschiedlichen Gehirnarealen gefunden. Auch berichten einige familienbasierte und Fall-Kontroll-Studien Assoziationen von RGS4-Polymorphismen und der Schizophrenie. Die Ergebnislage ist insgesamt jedoch inkonsistent.

Eine mögliche Ursache für die inkonsistenten Ergebnisse ist die ätiologische Heterogenität der klinisch-psychiatrischen Diagnose Schizophrenie. Daher wurde in jüngster Zeit der Versuch unternommen, Assoziationen zwischen unterschiedlichen klinischen Subgruppen und RGS4-Polymorphismen zu finden. Eine weitere Möglichkeit ätiologisch homogenere Subgruppen zu bilden, bietet das Konzept der Endophänotypen, wobei die angenommenen neurobiologischen Korrelate einer Erkrankung als Phänotypen untersucht werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, mögliche Zusammenhänge zwischen sechs untersuchten Basenaustauschpolymorphismen und Haplotypen des RGS4-Gens und der Schizophrenie zu eruieren. Zudem werden Assoziationen der genetischen Marker des RGS4-Gens mit schizophrenieassoziierten Endophänotypen untersucht. Hierzu wurden Allel- und Genotypfrequenzen von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollprobanden verglichen.

4 Material und Methoden

4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Durchführung der Studie erfolgte mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission. Die auf freiwilliger Basis teilnehmenden Probanden wurden zunächst in einem Gespräch über Art, Umfang und Zielsetzung der Studie informiert. Nach Aufklärung über die anonymisierte Verwendung sämtlicher erhobener Daten inklusive der gewonnenen Blutproben, dokumentierten die Studienteilnehmer ihr Einverständnis durch Unterzeichnung einer schriftlichen Einverständniserklärung.

4.2 Studienteilnehmer

4.2.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

In einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde der Zusammenhang von sechs verschiedenen Markern des RGS4-Gens mit der Schizophrenie untersucht. Die Teilnehmer dieser Studie waren gesunde Kontrollprobanden und an Schizophrenie erkrankte Personen.

4.2.1.1 Kontrollprobanden

Die Kontrollgruppe bestand aus einer Stichprobe von 1315 nicht verwandten, deutschstämmigen Personen aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens. 54.4% der Teilnehmer waren weiblichen und 45.6 % männlichen Geschlechts. Das Alter variierte von 19 bis 79 Jahre und betrug im Durchschnitt 46,33 Jahre.

Die Rekrutierung des Probandenkollektivs erfolgte in einem mehrstufigen Verfahren. Zunächst wurde an zufällig ausgewählte Personen ein Einladungsschreiben zur Studienteilnahme verschickt. Hierin wurde über den Hintergrund sowie die Ziele und den organisatorischen Ablauf der Studie informiert. Bei Interesse an einer Studienteilnahme wurden die Eingangsvoraussetzungen zunächst mittels eines standardisierten Telefonscreenings geprüft. Erforderlich waren hierbei das Fehlen von psychiatrischen und

neurologischen Erkrankungen sowie von Alkohol-, Drogen-, und Medikamentenmissbrauch, Suizidalität und Suizid sowohl bei den Probanden selbst als auch deren biologischen Angehörigen. Bestanden hierzu keine Hinweise, erfolgte die Zusendung eines ausführlichen Anamnesebogens zur schriftlichen Erfassung der somatischen und psychiatrischen Krankheitsgeschichte des Probanden und seiner biologischen Verwandten ersten, zweiten und dritten Grades. Von besonderem Interesse waren hierbei etwaige psychiatrische und neurologische Vorerkrankungen und deren stationäre bzw. ambulante Behandlung vor allem im Hinblick auf das Vorhandensein von affektiven Störungen, Angst- und Panikstörungen, Zwangserkrankungen, Essstörungen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Spektrum, Alkohol- und Drogenkonsum sowie suizidale Phasen bzw. Suizid bei Verwandten. Zudem wurde eine ausführliche biographische Anamneseerhebung durchgeführt, wobei unter anderem die Ethnizität, etwaige Komplikationen während der Schwangerschaft und der eigenen Geburt, der schulische und berufliche Werdegang und der Familienstand erfragt wurden.

Waren die Voraussetzungen zur Studienteilnahme weiterhin erfüllt, wurden die Kontrollprobanden in einem nächsten Schritt zu einem umfassenden Interview in die Klinik eingeladen. Im Rahmen dieses Termins wurde die deutsche Version des *Strukturierten Klinischen Interviews* zur Exploration gemäß der Klassifikation des Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) der American Psychiatric Association in seiner vierten Revision, 1994 (Wittchen et al. 1996, 1997) durchgeführt. Zur Erfassung der DSM-IV Achse I Störungen (Psychopathologie) wurde das SKID I (Wittchen et al. 1997) als halbstrukturiertes klinisches Interview eingesetzt. Persönlichkeitsstörungen, die im DSM-IV auf Achse II subsumiert werden, wurden mittels SKID II (Wittchen et al. 1997) exploriert. Zudem wurden psychosoziale Belastungsfaktoren (Achse IV) erfasst und eine Beurteilung des globalen Funktionsniveaus (Achse V) durchgeführt. Zur Aufklärung psychiatrischer Diagnosen bei Verwandten wurde das *Family History Assessment Module* (Rice et al. 1995) eingesetzt. Bisher erlebte kritische Lebensereignisse sowie deren Relevanz in Bezug auf individuelle Lebensziele wurden mit dem *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar* (Richter & Guthke 1996) erfasst, welches als strukturiertes Interview durchgeführt wurde. Zur Einschätzung der allgemeinen kognitiven Leistungsfähigkeit wurden der *Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene* in revidierter Form (HAWIE-R; Tewes 1994) sowie der *Wortschatztest* (Schmidt & Metzler 1992) eingesetzt. Bei allen Probanden ab 60 Jahren wurde

der *Mini-Mental-Status-Test* (MMST; Kessler et al. 1990) durchgeführt um kognitive Leistungseinbusen abzuklären.

Ein Studieneinschluss erfolgte nur bei negativer psychiatrischer Familienanamnese sowie dem Fehlen von Achse I und Achse II Störungen (lifetime) und relevanter neurologischer Erkrankungen. Probanden mit einem IQ-Gesamtwert unter 80 (HAWIE-R) und/oder einem MMST Wert von unter 26 Punkten wurden ebenfalls von der Studie ausgeschlossen.

4.2.1.2 Patienten

Das Patientenkollektiv bestand aus 504 schizophrenen Personen kaukasischer Abstammung. Die Altersverteilung von 18 bis 70 Jahren ergab ein mittleres Alter von 37,78 Jahren. 34,9% der Patienten waren Frauen, 65,1% Männer.

Tabelle 4: Alters- und Geschlechtsverteilung der Kontroll- und Patientengruppe der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Gruppe	Alter (Jahre) Mittelwert (SD)	Geschlecht n (%)		Gesamt n
		männlich	weiblich	
Kontrollen	46.33 (15.73)	600 (45.6)	715 (54.4)	1315
Patienten	37.78 (11.37)	328 (65.1)	176 (34.9)	504
Gesamt n (%)		928 (51.0)	891 (49.0)	1819

Im Rahmen der Rekrutierung wurden Patienten kontaktiert, bei denen eine Schizophrenie diagnostiziert worden war. Hintergrund, Zielsetzung und Ablauf der Studie wurden den Patienten beim Erstkontakt erläutert. Bei Interesse an einer Studienteilnahme wurden die Patienten zu einem persönlichen Gespräch in die Klinik eingeladen. War dieses von Seiten der Patienten nicht möglich, wurden Hausbesuche durchgeführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass nur stabile Patienten in die Studie einbezogen wurden.

Zum Untersuchungstermin wurde im Gespräch eine einleitende umfassende somatische und psychiatrische Anamneseerhebung mittels standardisierter Anamnesebögen vorgenommen. Hierbei wurden relevante biographische Daten erfragt wie beispielsweise Komplikationen während der Schwangerschaft oder der eigenen Geburt, eigene Erkrankungen, inklusive Kinderkrankheiten und schwere Unfälle, stationäre und ambulante Behandlungen in

psychiatrischen und nichtpsychiatrischen Krankenhäusern, eventuelle Suizidversuche, Medikamenteneinnahme, Alkohol- und Drogenkonsum sowie Rauchverhalten. Darüber hinaus wurde im Gespräch die Lebensgeschichte des Patienten thematisiert, wobei der schulische und berufliche Werdegang, sowie die familiäre- und Wohnsituation ebenso eruiert wurden wie auffällige Verhaltensweisen und soziale Kontakte im Kindes- und Jugendalter und belastende Lebensereignisse. Im Rahmen der Anamneseerhebung wurden auch relevante biographische Daten und vor allem psychiatrische und neurologische Erkrankungen der biologischen Verwandten ersten, zweiten und dritten Grades erfragt.

Das anschließend durchgeführte SKID I in der klinischen Version diente zum einen der Verifizierung der Diagnose nach den DSM-IV-Richtlinien, zum anderen der genauen Erfassung der klinischen Symptomatik und des Verlaufs der Erkrankung. Das DSM-IV fordert für die Diagnose Schizophrenie das Vorliegen von mindestens zwei der fünf Symptome Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katatonies Verhalten bzw. Negativsymptomatik (Affektverflachung, Apathie, Antriebshemmung oder Alogie) über einen erheblichen Zeitraum eines Monats. Handelt es sich um bizarre Wahnvorstellungen oder akustische Halluzinationen in Form von kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen, wird lediglich ein Merkmal gefordert. Für das Bestehen der Störung wird eine zeitliche Mindestvoraussetzung von sechs Monaten verlangt, wovon die Symptome einer akuten Episode für mindestens einen Monat erfüllt sein müssen. Während der Prodromal- und Residualphasen sind auch negative Symptome hinreichend. Außerdem wird ein klinisch bedeutsames Leiden mit zumindest zeitweiligem deutlichem Absinken des früheren Funktionsniveaus in mindestens einem Funktionsbereich (wie beispielsweise Arbeitsbereich oder sozialen Beziehungen) verlangt.

Differenzialdiagnostisch erfolgte der Ausschluss von schizoaffektiven Störungen, affektiven Störungen mit psychotischen Merkmalen, schizophrenieformen Störungen, wahnhaften Störungen sowie kurzen oder nicht näher zu bestimmenden psychotischen Störungen. Zusätzlich durfte die Exacerbation der Erkrankung keine direkte Folge eines Konsums psychotroper Substanzen (Drogen, Medikamente) oder eines allgemeinen medizinischen Krankheitsfaktors (z. B. von neurologischen oder endokrinen Faktoren, Stoffwechsel-, Autoimmun- oder anderer somatischer Erkrankungen) sein. In die Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, bei denen keine organische Ursache für die Entstehung der Störung eruiert werden konnte. Daher wurden Personen bei denen vor der Erstmanifestation der

Schizophrenie Erkrankungen wie beispielsweise Epilepsie, Lues-II-Infektionen, schwere Schädel-Hirn-Traumata oder eine Enzephalopathie diagnostiziert wurden, ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien waren eine floride Hepatitis B oder C, HIV-Positivität und Hinweise auf einen intravenösen Heroinkonsum (lifetime).

Anhand der Beurteilungsanleitung des SKID I wurde aufgrund der eruierten klinischen Symptome die Bestimmung des phänomenologischen Subtyps (paranoid, kataton, desorganisiert und undifferenziert) vorgenommen. Die Erfassung der Chronologie der Störung umfasste das Alter bei Beginn der prodromalen Symptome, das Alter der Erstmanifestation, die Anzahl der Episoden oder Verschlechterungen sowie den aktuellen Remissionsgrad. Der Schweregrad der Symptome wurde sowohl hinsichtlich des aktuellen als auch des jemals am ausgeprägtesten vorliegenden Ausmaßes eingeschätzt. Zudem wurde zwischen einer einzelnen Episode der Erkrankung und einem episodischen, kontinuierlichen und unspezifischen Verlaufsmuster differenziert.

Anhand der weiteren Sektionen des SKID I wurden eventuelle Komorbiditäten festgestellt. Den Beurteilungskriterien des SKID I entsprechend, wurden die eruierten Symptome nur dann als eigenständige Diagnose codiert, wenn sie nicht besser durch eine andere psychische Störung (Schizophrenie) erklärt werden konnten. In Sektion A wurden affektive (depressive, manische, hypomane und dysthyme) Symptome erfasst, die in Sektion D differenzialdiagnostisch abgeklärt wurden. In Sektion E wurde der Konsum von Alkohol und psychotropen Substanzen erfragt und ein eventueller Missbrauch oder eine Abhängigkeit eingeschätzt. Teil F diente zur Abklärung verschiedener Angststörungen wie beispielsweise Panikstörungen, Phobien, Zwangsstörungen, Posttraumatischen Belastungsstörungen und Anpassungsstörungen. Somatoforme Störungen (z. B.: Somatisierungsstörung, Hypochondrie oder Körperwahrnehmungsstörungen) wurden in Sektion G, Essstörungen (Anorexia Nervosa, Bulimia Nervosa, etc.) in Sektion H codiert.

Zudem wurde das globale Funktionsniveau und die soziale Anpassung mit Hilfe der Global Assessment Scale (GAS; DSM-IV Achse V) beurteilt. Diese Einschätzung bezog sich zum einen auf den Untersuchungszeitpunkt zum anderen auf die schlimmste Phase der Erkrankung. Aufgrund eines Interviews wurde die psychische, soziale und berufliche Leistungsfähigkeit des Patienten anhand einer Skala (0 bis 100 Punkte) eingeschätzt. Dieser

Einschätzung liegt der Gedanke eines hypothetischen Kontinuums zwischen psychischer Gesundheit und Krankheit zugrunde.

4.2.2 Endophänotypen-Studie

Bei einer Subgruppe der Teilnehmer wurden mehrere neuropsychologische Tests durchgeführt um hierdurch verschiedene Endophänotypen zu erheben.

Tabelle 5: Alters- und Geschlechtsverteilung der Kontroll- und Patientengruppe der Endophänotypen-Studie

Gruppe	Alter (Jahre) Mittelwert (SD)	Geschlecht n (%)		Gesamt n
		männlich	weiblich	
Kontrollen	48.11 (14.93)	118 (47.6)	130 (52.4)	248
Patienten	39.02 (10.28)	64 (63.1)	38 (36.9)	102
Gesamt n (%)		182 (52.0)	168 (48.0)	350

4.3 Neuropsychologische Testverfahren

Eine Vielzahl neuropsychologischer Tests wurde sowohl bei den Kontrollprobanden als auch den schizophrenen Patienten durchgeführt. Die einzelnen Testverfahren lassen sich unterschiedlichen kognitiven Domänen (Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, Vigilanz, Exekutivfunktionen, Wortflüssigkeit, Arbeitsgedächtnis, Visuelles und Verbales Gedächtnis) zuordnen.

Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit

Der *Zahlen-Verbindungs-Test* (ZVT) von Oswald und Roth (Oswald & Roth 1987) wird zur Erfassung der basalen, allen Intelligenzleistungen zugrunde liegenden, kognitiven Leistungsgeschwindigkeit eingesetzt. Es wird postuliert, dass diese Fähigkeit, die auch als fluide Intelligenz oder Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit bezeichnet wird, weitgehend milieuunabhängig und genetisch bedingt ist.

Der *Trail Making Test* (TMT, Reitan 1992), der aus den Teilen A und B besteht, untersucht die kognitive Umschaltfähigkeit und kognitive Flexibilität unter Zeitdruck.

Zur Untersuchung der individuellen Aufmerksamkeit und Konzentrationsfähigkeit wurde der *Test d2 Aufmerksamkeits-Belastungs-Test* (Brickenkamp 2002) eingesetzt.

Vigilanz

Die Vigilanz (Daueraufmerksamkeit) wurde mit dem *3-7 Continuous Performance Test* (Nuechterlein & Asarnow 2004) erfasst. Unter Vigilanz versteht wird die Fähigkeit verstanden, sich über einen längeren Zeitraum hinweg auf relevante Stimuli oder Reize zu konzentrieren.

Exekutivfunktionen

Mit dem *Wisconsin Card Sorting Test* (WCST, Heaton 2003) werden Exekutivfunktionen erfasst. Unter diesem Begriff werden verschiedene höhere Hirnleistungen subsumiert, die beispielsweise das abstrakte Denken, das Entwickeln von Strategien und ein planvolles Handeln ermöglichen. Mit diesem Test kann eine zuverlässige Beurteilung der kognitiven Umstell- und Planungsfähigkeit vorgenommen werden.

Wortflüssigkeit

Zur Erfassung der Wortflüssigkeit wurde der *Regensburger Wortflüssigkeitstest* (RWT, Aschenbrenner et al. 2000) eingesetzt. Dabei wurde sowohl die formallexikalische als auch die semantische Wortflüssigkeit untersucht. Auch der Wechsel innerhalb formallexikalischer bzw. semantischer Kategorien wurde getestet.

Arbeitsgedächtnis

Mit dem *n-back* (Coppola 1999) wurde das Arbeitsgedächtnis untersucht. Dabei ist die simultane Aufnahme neuer und das Abrufen bestehender Informationen, sowie deren Aufrechterhaltung und kontinuierliche Aktualisierung im Arbeitsgedächtnis erforderlich.

Visuelles Gedächtnis

Der *Verbale Lerntest* und der *Nonverbale Lerntest* (VLT/NVLT, Sturm & Willmes 1999) sind Verfahren mit denen verbale und nonverbale Lernleistungen nach der

Wiedererkennungsmethode untersucht werden. Die beiden Verfahren unterscheiden sich lediglich bezüglich des verwendeten Materials, die Untersuchungsmethoden sind identisch.

Der *Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung* (WMS-R, Härting et al. 2000) ist die deutsche Adaptation der *Wechsler Memory Scale - Revised* (Wechsler 1987). Dieser Test erlaubt eine Beurteilung unterschiedlicher mnestischer Teilbereiche. Neben visuellem Gedächtnis werden mit diesem Test auch Funktionen des verbalen Gedächtnisses erfasst.

Verbales Gedächtnis

Zusätzlich zum *Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung* (WMS-R, Härting et al. 2000) wurden die unterschiedlichen Parameter des verbalen deklarativen Gedächtnisses mit dem *Verbalen Lern- und Merkfähigkeitstest* (VLMT, Helmstaedter et al. 2001) untersucht.

Da die kognitive Domäne Verbales Gedächtnis einen zentralen Aspekt der vorliegenden Arbeit darstellt, wird an dieser Stelle eine genaue Beschreibung der Verfahren vorgenommen, mit denen die Funktionen des Verbalen Gedächtnisses erfasst wurden.

4.3.1 Der Wechsler Gedächtnis Test – Revidierte Fassung (WMS-R)

Der *Wechsler Gedächtnis Test - Revidierte Fassung* (WMS-R) ist die deutsche Adaptation von Härting et al. (2000) der *Wechsler Memory Scale - Revised* (Wechsler 1987). Der WMS-R besteht aus insgesamt 14 Untertests und erlaubt eine Beurteilung unterschiedlicher mnestischer Teilbereiche.

Untertests:

Die Fragen zur *Information und Orientierung* beinhalten Fragen zur Person, der zeitlichen und örtlichen Orientierung sowie allgemeine Informationsfragen. Das Ziel dieser Fragen ist die Beurteilung der Durchführbarkeit und Interpretierbarkeit des Tests. Die hierbei erzielten Punkte werden protokolliert, gehen aber nicht in die Beurteilung der Gedächtnisleistung ein.

Im Untertest *Mentale Kontrolle* soll der Proband Reihen von Zahlen bzw. Buchstaben wiedergeben. Die einzelnen Aufgaben bestehen im Aufsagen des Alphabets, dem Rückwärtszählen von 20 bis 1 und dem Zählen in dreier Schritten.

Im Subtest *Figurales Gedächtnis* soll der Proband zuvor dargebotene Muster aus einer Anzahl von Mustern wiedererkennen. Damit wird die unmittelbare visuelle Wiedererkennungslleistung getestet.

Beim Subtest *Logisches Gedächtnis I* werden dem Probanden zwei kurze Geschichten, die jeweils aus 50 semantischen Einheiten bestehen, vorgelesen. Jeweils direkt im Anschluss an das Vorlesen sollen diese Geschichten vom Probanden wiedergegeben werden (unmittelbare Wiedergabe).

Im Untertest *Visuelle Paarererkennung I* werden dem Probanden für jeweils drei Sekunden sechs Paare bestehend aus jeweils einer Strichfigur und einer bestimmten Farbe (Farb-Figuren-Paare) gezeigt. Anschließend werden die Strichfiguren allein dargeboten und der Proband soll in einer Farbkarte auf die zur Figur gehörende Farbe zeigen (unmittelbare Wiedergabe).

Der Untertest *Verbale Paarererkennung I* prüft die Fähigkeit, verbal präsentierte Wortpaare assoziativ miteinander zu verknüpfen und abzurufen. Hierzu werden dem Probanden acht Wortpaare vorgelesen. Vier Wortpaare sind semantisch hoch assoziiert, die restlichen vier sind es nicht. Bei der anschließenden Vorgabe des ersten Wortes des Wortpaares durch den Testleiter soll der Proband das jeweils zweite Wort des Wortpaares erinnern (unmittelbare Wiedergabe).

Im Rahmen des Subtests *Visuelle Wiedergabe I* werden dem Probanden vier Stimuluskarten mit darauf abgebildeten Figuren für jeweils zehn Sekunden gezeigt. Im unmittelbaren Anschluss daran wird er gebeten, die jeweiligen Figuren frei zu zeichnen (unmittelbare Wiedergabe).

Der Untertest *Zahlenspanne* besteht aus zwei Aufgabentypen, der *Zahlenspanne vorwärts* und der *Zahlenspanne rückwärts*. Während die Vorwärts-Variante die kurzfristige Einspeicherung verbalen Materials erfasst, werden mit der Rückwärts-Variante zusätzlich aktivere Aspekte der Informationsverarbeitung (Reorganisation im Arbeitsgedächtnis) überprüft. Bei der *Zahlenspanne vorwärts* werden dem Probanden Zahlenfolgen wachsender Länge vorgelesen, welche dieser in unmittelbarem Anschluss wiedergeben soll. Mit der *Zahlenspanne rückwärts*

wird geprüft, wie gut der Proband dazu in der Lage ist, die ihm vorgelesenen Zahlenfolgen wachsender Länge in genau umgekehrter Reihenfolge zu wiederholen.

Der Subtest *Blockspanne* (visuelle Merkspanne) besteht aus zwei Aufgabentypen, der *Blockspanne vorwärts* und der *Blockspanne rückwärts*. Bei der Vorwärts-Variante werden dem Probanden auf einem Blockspannbrett Folgen wachsender Länge präsentiert, welche dieser im unmittelbaren Anschluss wiederholen soll. Bei der *Blockspanne rückwärts* wird untersucht, wie gut der Proband dazu in der Lage ist, die ihm gezeigten Folgen wachsender Länge in genau umgekehrter Reihenfolge zu wiederholen.

Beim Untertest *Logisches Gedächtnis II* sollen die beiden Geschichten, die dem Probanden im Untertest *Logisches Gedächtnis I* vorgelesen wurden, nach ca. 30 Minuten erneut reproduziert werden (verzögerte Wiedergabe).

Im Untertest *Visuelle Paarererkennung II* soll der Proband nach ca. 30 Minuten – ohne erneute Darbietung der Farb-Figuren-Paare – beim Zeigen der jeweiligen Figur die dazugehörige Farbe aus dem Untertest *Visuelle Paarererkennung I* erinnern (verzögerte Wiedergabe).

Im Rahmen des Subtest *Verbale Paarererkennung II* soll der Proband nach ca. 30 Minuten – ohne erneutes Vorlesen der Wortpaare – bei Nennung des jeweils ersten Wortes der im Untertest *Verbale Paarererkennung I* gelernten Wortpaare, das zweite, dazugehörige Wort nennen (verzögerte Wiedergabe).

Der Untertest *Visuelle Wiedergabe II* prüft, wie gut sich der Proband nach ca. 30 Minuten an die ihm gezeigten und von ihm gezeichneten Figuren des Subtests *Visuelle Wiedergabe I* erinnert. Ohne erneute Darbietung dieser Figuren, soll er sie nochmals so genau wie möglich zeichnen (verzögerte Wiedergabe).

Auswertung:

Die Rohwerte der einzelnen Untertests werden zunächst in gewichtete Rohwerte transformiert und anschließend zu vier normierten Indizes zusammengefasst. Somit ergibt sich der Indexwert für das Verbale Gedächtnis (unmittelbare Wiedergabe) aus den Subtests *Logisches Gedächtnis I* und *Verbale Paarererkennung I*. Der Indexwert des Visuellen Gedächtnisses (unmittelbare Wiedergabe) errechnet sich aus den Werten der Subtests *Figurales Gedächtnis*,

Visuelle Paarerkenkung I und *Visuelle Wiedergabe I*. Die Summe der Indizes des Verbalen und Visuellen Gedächtnisses ergibt das Allgemeine Gedächtnis. Der Indexwert des Faktors Aufmerksamkeit/Konzentration setzt sich aus der Summe der *Zahlen-* und *Blockspanne* (vorwärts und rückwärts) zusammen. Der letzte der vier Indizes, Verzögertes Gedächtnis (verzögert Wiedergabe), ergibt sich aus den Subtests *Logisches Gedächtnis II*, *Visuelle Paarerkenkung II*, *Verbale Paarerkenkung II* und *Visuelle Wiedergabe II*. Alle Indexwerte sind so normiert, dass der Mittelwert bei 100 liegt und die Standardabweichung 15 beträgt.

Gütekriterien:

Objektivität: Aufgrund der standardisierten Instruktion kann die Durchführungsobjektivität als gegeben angesehen werden. Für die Auswertung stehen genaue Beurteilungskriterien zur Verfügung, so dass diese als objektiv gelten kann. Gleiches gilt aufgrund der vorhandenen Normtabellen für gesunde und klinische Stichproben bezüglich der Interpretationsobjektivität.

Reliabilität: Die Reliabilitäten der einzelnen Indizes liegen zwischen $r = 0.70$ und $r = 0.90$. Die Retest-Reliabilität liegt zwischen 0.42 (*Visuelle Wiedergabe II*) und 0.83 (*Zahlenspanne*). Bei lediglich vier Untertests war $r > 0.75$, so dass die Retest-Reliabilitäten insgesamt als niedrig eingestuft werden müssen. Die Retest-Reliabilitäten der einzelnen Indizes hingegen sind ausreichend hoch: Allgemeines Gedächtnis: $r = 0.88$, Verbales Gedächtnis: $r = 0.81$, Visuelles Gedächtnis: $r = 0.81$, Aufmerksamkeit/Konzentration: $r = 0.80$ und Verzögerte Wiedergabe: $r = 0.80$.

Validität: Ergebnisse liegen von unterschiedlichen neurologischen, neurochirurgischen und psychiatrischen Patientengruppen vor. Vergleiche dieser Resultate mit den Testleistungen der gesunden Normstichprobe demonstrieren spezifische und signifikante Defizite der einzelnen Patientengruppen.

Normen: Für sieben Altersgruppen zwischen 15 und 74 Jahren liegen Normen (IQ-Werte und Prozentränge) vor.

4.3.2 Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT)

Der *Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest* (VLMT, Helmstaedter et al. 2001) dient der Erfassung unterschiedlicher Parameter des deklarativen verbalen Gedächtnisses. Untersucht werden die Supraspanne, die Lernleistung, die langfristige Enkodierungs- bzw. Abrufleistung und die Wiedererkennungslleistung.

Das Testmaterial besteht aus zwei Wortlisten – einer Lern- und einer Interferenzliste –, die aus je 15 semantisch unabhängigen Wörtern zusammengesetzt sind, sowie einer Wiedererkennungsliste, welche neben den 30 Wörtern der Lern- und Interferenzliste 20 weitere semantisch bzw. phonematisch ähnliche Distraktorwörter enthält. Dem Probanden werden in der Lernphase, die aus fünf Lerndurchgängen besteht, die 15 Begriffe der Lernliste immer in gleicher Reihenfolge vorgelesen. Nach jedem Durchgang soll der Proband alle erinnerten Wörter der Lernliste frei reproduzieren. Nach Abschluss der Lernphase wird vom Testleiter die Interferenzliste einmalig vorgelesen und unmittelbar danach vom Probanden frei wiedergegeben. Anschließend erfolgt, ohne erneute Darbietung durch den Testleiter, die freie Präsentation der zuerst gelernten Lernliste. Nach einer zeitlichen Verzögerung von ca. 30 Minuten, innerhalb derer weitere nichtsprachliche Tests durchgeführt werden, erfolgt ein erneuter freier Abruf der Lernliste. Als letztes wird vom Testleiter die Wiedererkennungsliste vorgelesen, wobei der Proband bei jedem Wort entscheiden muss, ob das vorgelesene Wort Bestandteil der Lernliste ist oder nicht.

Bei der Auswertung werden unterschiedliche Parameter berechnet: Die Gesamtlernleistung berechnet sich aus der Summe der richtig genannten Wörter aus den Lerndurchgängen 1 bis 5. Die richtig wiedergegebenen Wörter der Interferenzliste bilden die Abrufleistung der Interferenzliste (I). Die unmittelbare Abrufleistung der Lernliste nach Interferenz bildet den Durchgang (DG) 6, die zeitlich verzögerte Abrufleistung der Lernliste den DG 7. Die Differenz der Lernleistung DG5-DG6 bildet den Verlust nach Interferenz ab. Der Verlust nach zeitlicher Verzögerung wird von der Differenz der Lernleistung DG5-DG7 erfasst. Als letztes wird der Parameter Wiedererkennen bestimmt, der sich aus der Differenz der richtig erkannten Wörter aus der Wiedererkennungsliste und den hierbei gemachten Fehlern errechnet.

Gütekriterien:

Objektivität: Aufgrund der standardisierten Instruktion und Auswertung können die Durchführungs- und Auswertungsobjektivität als gegeben angesehen werden. Zur Wahrung der Interpretationsobjektivität stehen Normtabellen zur Verfügung.

Reliabilität: Die Retest-Reliabilitäten liegen je nach Parameter zwischen $r = 0.68$ und $r = 0.87$.

Validität: Mit 77% Varianzaufklärung zeigt die Faktorenstruktur des Tests, dass Kurzzeitgedächtnis- bzw. Arbeitsspeicherprozesse sowie Langzeitkonsolidierung und Wiedererkennungprozesse getrennt abgebildet werden.

Normierung: Der Test ist für den Altersbereich 6 bis 79 Jahre normiert, wobei für fünf Altersgruppen Prozentränge und T-Werte angegeben werden.

4.4 Laborverfahren

Um mögliche Assoziationen zwischen Polymorphismen des RGS4-Gens und der Schizophrenie bzw. schizophrenieassoziierten Endophänotypen zu untersuchen, erfolgte bei allen Studienteilnehmern eine venöse Blutabnahme. Um die Blutgerinnung zu unterbinden wurden EDTA-Monovetten verwendet. Anschließend wurde die DNA extrahiert.

4.4.1 DNA-Extraktion

Die Extraktion der genomischen DNA erfolgte mit dem QIAamp Blood Maxi Kit (QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook, Qiagen, Hilden, Germany, 2005), wobei der vorgegebenen Anleitung entsprechend verfahren wurde.

1. Vorbereitung der Blutproben und Zelllyse

In einem ersten Schritt wurden die Blutproben und die Zelllyse vorbereitet. Das EDTA-Blut wurde bei Raumtemperatur aufgetaut, um es für die Zelllyse vorzubereiten. Anschließend wurden jeweils 5-10ml Blut zur Lyse der Leukozyten und Freisetzung der Nukleinsäuren mit

500µl Proteinase K versetzt. Durch die einsetzende Verdauung und Degradierung der denaturierten Proteine zu kleineren Fragmenten wurde eine leichtere Trennung der DNA erreicht. Anschließend wurden 12ml eines Guanidin-HCl-haltigen Lysispuffers beigemischt, um optimale Reaktionsbedingungen für die Proteinase K zu schaffen und der DNA die Hydrathülle zu entziehen, so dass diese später an die Silikagel-Säule bindet. Um die Zelllyse zu vervollständigen, wurde die Lösung 2 Minuten lang gevortext. Zur Maximierung des DNA-Ertrags erfolgte anschließend eine mindestens 30-minütige Inkubation der Lösung in einem 70°C warmen Wasserbad unter gleichzeitigem Schütteln.

2. Adsorption der DNA an die Silikagel-Membran

Um das Gemisch auf das Säulenmaterial (Silikagel-Säule) zu fällen, wurde der Probe 10ml Ethanol (96-100%) zugegeben und für zwei Minuten auf dem Vortexer vermischt. Anschließend wurde die DNA-Lösung sukzessive auf die Silikagel-Säule gegeben und bei Raumtemperatur jeweils für drei Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Aufgrund der vorherrschenden Salz- und pH-Bedingungen bleiben die RNA und die Nukleinsäure-bindenden Proteine ungebunden, während die DNA an die Silikamembran bindet.

3. Reinigung der DNA

Um die RNA- und Protein-Verunreinigungen zu entfernen und dadurch die DNA zu reinigen, wurde zunächst Guanidin-HCl-haltiger Puffer (5ml) zugegeben und bei Raumtemperatur für eine Minute bei 5000rpm zentrifugiert. Um die Guanidiniumsalze zu entfernen, wurde anschließend ein ethanolhaltiger Waschpuffer (5ml) hinzu gegeben und bei Raumtemperatur 15 Minuten bei 5000rpm zentrifugiert.

4. Elution der DNA von der Silikamembran

Die Elution der DNA von der Silikamembran erfolgte durch Zugabe von 1,5ml AE-Puffer (Tris-Puffer, pH > 9.0). Der Puffer wurde direkt auf die DNA-haltige Membran pipettiert. Um einen maximalen DNA-Ertrag zu erhalten, wurde die Membran für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und für weitere 5 Minuten bei 5000rpm zentrifugiert. Der basische Puffer bewirkte die Elution der zuvor unter sauren Bedingungen gebundenen DNA.

Die so gewonnene DNA wurde bei -80°C gelagert bzw. für die nachfolgende Genotypisierung verwendet.

4.4.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Zur Bestimmung der DNA-Konzentration wurde die PicoGreen Methode eingesetzt. Bei PicoGreen handelt es sich um einen für doppelsträngige DNA ultraspezifischen Farbstoff, der nur im DNA-gebundenen Zustand fluoresziert. Die Intensität der Fluoreszenz hängt dabei direkt von der Menge der in der Probe enthaltenen DNA ab (www.invitrogen.com). Nach Verdünnung der DNA-Proben mit PicoGreen-Lösung (1:200 in *Aqua bidest*) im Verhältnis 1:50 wurde die Fluoreszenz bestimmt. Die Konzentration wurde anhand einer Eichkurve aus genomischer DNA bestimmt. Für die quantitative SNP-Genotypisierung wurde eine Genauigkeit der DNA-Konzentration von ca. +/-10% als ausreichend erachtet.

Tabelle 6: Verwendete Materialien zur Bestimmung der DNA-Konzentration

Material	Hersteller
Verbrauchsmaterialien	
96 well Platte	Greiner
Selbstklebende Aluminiumfolie	Eppendorf
50 ml konische PP-Röhrchen	Sarstedt
Reagenzien	
PicoGreen dsDNA quantitation reagent	PicoGreen Molecular Probes (Cat# P – 7581)
Clontech Human Genomic DNA 100 ng/μl	Clontech
Geräte	
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer
Optiplex GX620 Pentium 4 HT	Dell
Vortexer Reax	Heidolph
Victor 1420 Multilabelcounter	Wallac

1. Vorbereitung des genomischen Standards

Die Konzentrationsbestimmungen wurden in schwarzen 96 well Platten mit flachem Boden durchgeführt. Dabei wurde auf jeder zu messenden Platte eine Standardkurve ermittelt. Zur Vorbereitung der gDNA Standards wurden in jedes well der ersten zwei Reihen von Säule B

bis H 100µl aqua bidest pipettiert. In die ersten beiden *wells* der Reihe A (A1, A2, Tabelle 7) wurden 200µl der humanen genomischen DNA mit einer Konzentration von 100ng/µl pipettiert. Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, indem 100µl von Reihe A in Reihe B pipettiert wurden. Dieser Inhalt wurde dann durch fünfmaliges Umrühren mit der Pipettenspitze vermischt und anschließend 100µl in Reihe C gegeben. Nach der gleichen Methode wurden die Reihen D – G verdünnt, wobei die in Tabelle 7 dargestellten Konzentrationen erhalten wurden. Reihe H diente zur Bestimmung des Referenzwertes und enthielt daher keine genomische DNA (*Aqua bidest*: 0ng/µl gDNA). Abschließend wurden die Platten versiegelt, gekennzeichnet und als Standard DNA bei 4°C aufbewahrt.

Tabelle 7: Konzentration der genomischen DNA in den einzelnen Säulen

Reihen/Säulen		Konzentration (ng/ µl)
A1	A2	100
B1	B2	50
C1	C2	25
D1	D2	12,5
E1	E2	6,25
F1	F2	3,125
G1	G2	1,5262
H1	H2	0

2. Vorbereitung der Messplatte

Nachdem die gefrorenen PicoGreen Reagenzien ca. 60 Minuten bei Raumtemperatur in einem lichtundurchlässigen Behälter aufgetaut worden waren, wurde in einem mit Aluminiumfolie umhüllten 50ml Röhrchen eine Verdünnung von PicoGreen mit *Aqua bidest* in einem Verhältnis von 1:200 hergestellt und auf dem Vortexer gut durchmischt.

Während der Auftauzeit des PicoGreen Reagenz wurden je 5µl DNA der Stammlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt, da die Konzentration ohne Vorverdünnung den Messbereich des Fluoreszenzmessgeräts in der Regel übersteigt. Dazu wurden auf eine Abgene 96 *well* Platte mit der Janus Automated Workstation von Perkin Elmer je Probe 5µl DNA (Stammlösung) und 45µl *Aqua bidest* pipettiert.

Die Herstellung der Messplatte wurde mit der Janus Automated Workstation durchgeführt. Hierzu wurde zunächst auf eine schwarze 96 well Platte 50µl *Aqua bidest* je well vorgelegt. In Spalte 1 und 2 der 96 well Platte wurden beginnend mit A1 und A2 Duplikate von 5µl der gDNA Standard als Verdünnungsreihe pipettiert. Beginnend mit A3 wurde anschließend die vorverdünnte DNA in Duplikaten mit einem Volumen von je 5µl auf die Messplatte pipettiert. Abschließend erfolgte die Zugabe von 145µl PicoGreen-*Aqua bidest*-Gemisch pro well, bevor die Messplatte von einem Gripper in das Fluoreszenzmessgerät transportiert wurde.

3. Durchführung der Messung

Da es bereits nach 15 Minuten zu einem deutlichen Abfall der Fluoreszenz kommt, wurde diese unmittelbar mittels Fluoreszenzreader (Victor 1420 Multilabelcounter, Wallac) gemessen. Hierzu wurde die Messplatte zunächst für 30 Sekunden in Doppelkreisen geschüttelt. Zur Anregung des PicoGreens wurde eine Wellenlänge von 485nm verwendet und die Emission bei 535nm gemessen, wobei die Messzeit pro well 0.1 Sekunden betrug. Die Messergebnisse wurden an einen Computer (Optiplex GX620 Pentium 4 HAT, Dell) weitergeleitet, welcher aus den Doppelbestimmungen automatisch den Mittelwert berechnete.

4. Einstellung der DNA Konzentration auf 50ng/µl

Da der optimale Messbereich dieser Methode bei einer Konzentration zwischen 20 und 200ng/µl liegt, erfolgte bei Proben einer außerhalb dieses Bereichs liegenden Konzentration eine Messung in anderer Verdünnung.

Anhand der ermittelten Konzentrationswerte wurde automatisch das Verhältnis von *Aqua bidest* zu DNA-Volumen der Ausgangslösung bestimmt, das nötig war, um eine Arbeitskonzentration von 50ng/µl zu erreichen. Die Konzentrationseinstellung von 500µl einer Arbeitslösung wurde automatisch von der Janus Automated Workstation durchgeführt.

4.4.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung wurde an sechs SNPs des RGS4-Gens (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142) vorgenommen (National Center for Biotechnology Information (NCBI): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Vom RGS4-Gen werden auf NCBI

Tabelle 8: Lokalisation der SNPs in Isoform 2

ID / Accession No.	Contig Position	Chromosom 1 Position	Allel	Position im/zum Gen
rs951436	13523697	161299966	A/C	5' Intergenregion
rs951439	13524046	161300315	C/T	5' Intergenregion
rs2661319	13530132	161306401	C/T	Intron 1
rs2842030	13530850	161307119	G/T	Intron 1
rs10759	13536706	161312975	A/C	3' UTR
rs2063142	13543644	161319913	C/T	3' Intergenregion

Der Marker rs951436 wird bei Chowdari et al. (2002) als SNP 4 bezeichnet, der Basenaustauschpolymorphismus rs951439 als SNP 7 und der Marker rs2661319 als SNP 18.

Tabelle 9: Primersequenzen

ID/Accession No.	Primer 1	Primer 2	Fragmentlänge	Extend Primer
rs951436	ACGTTGGATGT GGTATACAGC ATCCTCCAG	ACGTTGGATGG GCCTAGACATC AATGAGAG	102 bp	TCAATGAGAGT TCAGTTATTGA
rs951439	ACGTTGGATGC ATCTGGAAGGT ATTGTTGAC	ACGTTGGATGT CCTGCTGTGTG GCTGAATG	100 bp	ggaCTGAATGTC TGCCCC
rs2661319	ACGTTGGATGG TGAAAGTTACT GCACCACC	ACGTTGGATGA GGAAAGGTAC CCCAGAATG	102 bp	tgTGGCTCCATC ATCAGAAAGG CACTA
rs2842030	ACGTTGGATGC CGTACAAAAA TACAAGAGTG	ACGTTGGATGC TTTGAGGACAG AGCTCTAG	115 bp	AAATATTTACC AGAGCATAAC TTT
rs10759	ACGTTGGATGT ACAACTGAAA AACACACTC	ACGTTGGATGC TCACAGACTGC TGTCTTAC	119 bp	TAATAGGTCTG GAAGGTCAC
rs2063142	ACGTTGGATGT TCCACGAATCT ATTGGTC	ACGTTGGATGT GTCTCAGGGAT ACACTGTC	83 bp	ACTGTCCTGGA AGAAGA

Die Genotypisierung wurde mit Hilfe des iPLEX-Verfahrens durchgeführt. Das Verfahren beruht auf der Bestimmung molekularer Massen von allelspezifischen Primerextensionsprodukten und ermöglicht eine reproduzierbare, automatisierte Genotypisierung im Hochdurchsatz bei hoher Sensitivität und Genauigkeit. Das iPLEX-Verfahren besteht aus einer konventionellen Polymerase-Kettenreaktion (PCR), einer anschließenden modifizierten PCR, der so genannten iPLEX-Reaktion, sowie der abschließenden Massendetektion im MassARRAY Matrix-Assisted Laser

Desorption/Ionization Time-Of-Flight Massenspektrometer (MassARRAY MALDI-TOF MS).

1. Die konventionelle PCR-Reaktion

Im Rahmen der initialen PCR erfolgte die Amplifikation der genomischen Bereiche, welche die zu genotypisierenden SNPs enthielten. Dazu wurde zunächst mit Hilfe eines Pipettierroboters (Microlab 4000, Hamilton) auf vier 96 *well* Platten (Abgene) ein Mastermix erstellt. In jedes *well* wurde die gleiche Lösung pipettiert (Tabelle 10) und im Anschluss auf eine 384 *well* Platte übertragen.

Tabelle 10: Reagenzien der initialen PCR

Reagenz	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	1.850 µl	Purelab ultra, ELGA
PCR-Puffer mit MgCl ₂	0.625 µl	Qiagen
MgCl ₂ (25 mM)	0.325 µl	Qiagen
dNTP Mix (25 mM)	0.100 µl	Abgene
Primer Mix (jeweils 500 nM)	1.000 µl	Qiagen
Genomische DNA (5-10 ng/µl)	1.000 µl	
Hotstar Taq (5 U/µl)	0.100 µl	Qiagen

Nach Zentrifugation der 384 *well* Platte wurde die PCR in einem Thermocycler (GeneAmp, PCR System 9700, Applied Biosystems) durchgeführt. Initial erfolgte eine Erwärmung auf 94°C für 15 Minuten (initiale Denaturierung). Um die DNA zu denaturieren, wurden die Proben für 20 Sekunden auf 94°C gehalten. Im zweiten Schritt wurden die Proben für 30 Sekunden auf 56°C abgekühlt, so dass sich die forward- und reverse-Primer an die Einzelstränge der DNA anlagern konnten (Annealing). Im dritten Schritt wurde die Temperatur für eine Minute auf 72°C erhöht, so dass die Taq-Polymerase die Nukleotide an die Primer anfügen konnte (Elongation). Nach insgesamt 45 Zyklen und einer abschließenden dreiminütigen Extension bei 72°C stand ausreichend Material für das weitere Vorgehen zur Verfügung.

Damit die überschüssigen Desoxynukleotidtriphosphate (dNTPs) die spätere Messung im Massenspektrometer nicht stören, wurden sie durch Zugabe von Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP; Sequenom) dephosphoryliert. Hierzu wurde ein SAP Mix aus 1.530µl autoklaviertem Wasser, 0.170µl SAP Puffer (10x) und 0.300µl SAP Enzym in einer Konzentration von 1U/µl

hergestellt. Zu jeder PCR-Reaktion wurden 2 µl des SAP Mixes hinzu gegeben und vorsichtig gevortexet. Der Ansatz wurde für 20 Minuten bei 37°C in einem Thermocycler inkubiert und das SAP Enzym anschließend für 5 Minuten bei 85°C inaktiviert.

2. Die iPLEX-Reaktion

Die nun folgende iPLEX-Reaktion erzeugt für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Primerextensionsprodukte. Dazu werden die Primer so designed, dass sie unmittelbar vor dem zu untersuchenden SNP an das PCR-Produkt binden (Tabelle 8). Durch den Einsatz von Didesoxynukleotidtriphosphaten wird jeder Extensionsprimer um nur eine Base verlängert. Zur besseren Unterscheidbarkeit der Massen der angehängten Didesoxynukleotide haben diese eine spezielle funktionelle Gruppe angehängt.

Tabelle 11: Zusammensetzung des iPLEX Mix

Reagent	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	0.755 µl	Sequenom
iPLEX Puffer 10x	0.200 µl	Sequenom
iPLEX Abbruch-Mix	0.200 µl	Sequenom
Primer Mix (7 µM:14 µM)	0.800 µl	Sequenom
iPLEX Enzyme	0.041 µl	Sequenom

Zunächst wurde ein so genannter iPLEX Mix (Tabelle 10) in jedes *well* pipettiert und anschließend die Reaktion im Thermocycler durchgeführt. Für die initiale Denaturierung wurde der Cycler zunächst auf 94°C erhitzt und die Proben für 30 Sekunden auf dieser Temperatur gehalten. Es folgten eine anschließende Denaturierung bei 94°C für 5 Sekunden, Annealing bei 52°C für 5 Sekunden und Extension bei 80°C für 5 Sekunden. Dieser Annealing-Extension Zyklus wurde insgesamt fünf Mal durchlaufen, bevor eine erneute Denaturierung bei 94°C für 5 Sekunden erfolgte. Diese Abfolge von Denaturierung und Annealing-Extension wurde insgesamt 40 Mal wiederholt. Die finale dreiminütige Extensionreaktion fand bei 72°C statt.

Um die massenspektrometrische Analyse nicht durch Ionen zu beeinträchtigen, wurden die Proben anschließend mittels Clean Resin (Sequenom) unter Verwendung von *dimple plates* entsalzt.

3. Massenspektrometrische Analyse

Die massenspektrometrische Analyse wurde mit Hilfe des MassARRAY MALDI-TOF Systems der Firma Sequenom durchgeführt. Hierzu wurde das Analysegemisch zunächst mit dem MassARRAY Nanodispenser (Sequenom) auf einen 384-Format SpectroCHIP (Sequenom) aufgebracht. Die Matrix des Siliziumchips besteht aus 3-Hydroxypicolinsäure, wodurch ein Auskristallisieren der Proben-DNA verhindert wird. Zur Kalibrierung des Analysesystems wurde zu den Proben eine Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse aufgetragen. Die Chips wurden durch eine Vakuumschleuse in das Massenspektrometer eingeschleust und im Hochvakuum (ca. 10^{-8} - 10^{-6} mbar) für einige Nanosekunden einem intensiven Laserpuls (N_2 -Laser: $\lambda = 337\text{nm}$) ausgesetzt. Hierdurch wurde das Probenmaterial verdampft und zugleich ionisiert. Diese einfach geladenen Ionen wurden anschließend in einem elektrostatischen Feld beschleunigt. Durch die Messung der Flugdauer durch eine genau definierte, feldfreie Driftstrecke zwischen der Beschleunigungselektrode und dem Detektor, konnte auf die molekulare Masse der Ionen geschlossen werden. Mit Hilfe der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom) konnte so jedem in der Extensionsreaktion erzeugten DNA-Fragmente ein spezifischer Genotyp zugeordnet werden.

4.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe der SPSS 14.0 Software (Statistical Package for Social Sciences, Inc Chicago, 2005) durchgeführt.

Die Verteilung der Genotypen wurde bezüglich des Hardy-Weinberg-Equilibriums getestet. Die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden bezüglich der Häufigkeiten der Allele und Genotypen wurden mit dem zweiseitigen χ^2 -Test überprüft.

Mit einer multivariaten Varianzanalyse (MANOVA) wurde anschließend geprüft, ob Zusammenhänge zwischen den sieben in einer Faktorenanalyse ermittelten kognitiven Domänen und den einzelnen SNPs vorliegen. Als Covariablen wurden Status (Patienten vs. Kontrollprobanden), Geschlecht, Schulbildung und Alter einbezogen. Die Genotypen und Allele gingen als unabhängige Variablen (UV), die einzelnen Domänen als abhängige Variablen (AV) in die Berechnung mit ein.

Mittels Haploview (Barrett et al. 2005) wurde die Kopplungsungleichgewichte und die LD-Blockstruktur errechnet. Mit Hilfe von haplo.score (<http://www.r-project.org>) wurden die Haplotypen und die Frequenzen für den Fall-Kontroll-Vergleich geschätzt und die Assoziationen zwischen den Haplotypen und den unterschiedlichen kognitiven Faktoren untersucht (Schaid et al. 2002). Dabei wurden die gleichen Covariablen einbezogen wie in der multivariaten Varianzanalyse: Status (Patienten vs. Kontrollprobanden), Geschlecht, Schulbildung und Alter. Alle p-Werte wurden 10.000 Permutationen unterworfen (p-sim).

Die Signifikanztests erfolgten zweiseitig. Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0.05$ zugrunde gelegt. Ab $p < 0.10$ wurde ein Trend zur Signifikanz angenommen.

5 Ergebnisse

5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie an 504 Schizophreniepatienten und 1315 Kontrollprobanden wurde analysiert, ob es eine Assoziation zwischen sechs untersuchten SNPs des RGS4-Gens und der Schizophrenie gibt. Nachfolgend werden die Allel- und Genotypverteilung für die beiden Kollektive dargestellt.

5.1.1 Analyse des Markers rs951436 des RGS4-Gens

Genotypverteilung

Die Genotypverteilung für die Kontrollgruppe ($F = 0.002$; $df = 1$; $p = 0.935$), für die Patientengruppe ($F = 0.020$; $df = 1$; $p = 0.658$) und für die Gesamtstichprobe ($F = 0.009$; $df = 1$; $p = 0.712$) war im Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE).

Tabelle 12: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs951436

Gruppe	Genotyp AA n (%)	Genotyp AC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n
Kontrollen	383 (29.1)	652 (49.6)	280 (21.3)	1315
Patienten	126 (25.0)	247 (49.0)	131 (26.0)	504
Gesamt	509 (28.0)	899 (49.4)	411 (22.6)	1819

Bezüglich der Genotypverteilung war ein tendenziell signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($\chi^2 = 5.801$; $df = 2$; $p = 0.055$). Bei Patienten kam verglichen mit Kontrollprobanden der Genotyp CC gehäuft vor (Tabelle 12).

Allelverteilung

Die statistische Auswertung für die Allelverteilung des SNPs rs951436 in der 5' Intergenregion des RGS4-Gens ergab für die Kontroll- und Patientengruppe die in Tabelle 13 dargestellten Häufigkeiten.

Tabelle 13: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs951436

Gruppe	A-Allel n (%)	C-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1418 (53.9)	1212 (46.1)	2630
Patienten	499 (49.5)	509 (50.5)	1008
Gesamt	1917 (52.7)	1721 (47.3)	3638

In der Allelverteilung war ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($\chi^2 = 5.691$; OR = 1.193 (CI = 1.032-1.380); df = 1; p = 0.017). Es konnte eine Assoziation dieses Markers mit Schizophrenie eruiert werden. Patienten waren im Vergleich zu Kontrollprobanden signifikant häufiger Träger des C-Allels.

5.1.2 Analyse des Markers rs951439 des RGS4-Gens

Genotypverteilung

Die Genotypen des SNP rs951439 waren sowohl in der Kontrollgruppe (F = 0.018; df = 1; p = 0.505), als auch in der Patientengruppe (F = 0.028; df = 1; p = 0.524) und der Gesamtstichprobe (F = 0.023; df = 1; p = 0.336) innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt.

Tabelle 14: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs951439

Gruppe	Genotyp CC n (%)	Genotyp CT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt n
Kontrollen	405 (30.9)	636 (48.5)	269 (20.5)	1310
Patienten	183 (36.0)	238 (46.9)	87 (17.1)	508
Gesamt	588 (32.3)	874 (48.1)	356 (19.6)	1818

Die Genotypfrequenzen wiesen eine tendenzielle Assoziation mit der Schizophrenie auf ($\chi^2 = 5.344$; df = 2; p = 0.069). Der Genotyp CC war bei Patienten tendenziell gehäuft vertreten (Tabelle 14).

Allelverteilung**Tabelle 15: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs951439**

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1446 (55.2)	1174 (44.8)	2620
Patienten	604 (59.4)	412 (40.6)	1016
Gesamt	2050 (56.4)	1586 (43.6)	3636

Die Allele waren zwischen der Kontroll- und Patientengruppe signifikant unterschiedlich verteilt ($\chi^2 = 5.397$; OR = 0.840 (CI = 0.725-0.973); df = 1; p = 0.020). Patienten hatten häufiger als Kontrollprobanden das C-Allel an diesem Locus (Tabelle 15).

5.1.3 Analyse des Markers rs2661319 des RGS4-Gens**Genotypverteilung**

In der Kontrollgruppe (F = 0.061; df = 1; p = 0.031) und der Gesamtstichprobe (F = 0.057; df = 1; p = 0.016) waren die Genotypen beim Ansehen eines Signifikanzniveaus von 5% nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht verteilt. In der Patientengruppe (F = 0.047; df = 1; p = 0.301) hingegen lag die Verteilung im HWE.

Tabelle 16: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2661319

Gruppe	Genotyp CC n (%)	Genotyp CT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt n
Kontrollen	356 (28.0)	596 (46.9)	318 (25.0)	1270
Patienten	123 (25.3)	232 (47.6)	132 (27.1)	487
Gesamt	479 (27.3)	828 (47.1)	450 (25.6)	1757

Bezüglich der Genotypverteilung (Tabelle 16) war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($\chi^2 = 1.618$; df = 2; p = 0.445).

Allelverteilung**Tabelle 17: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs2661319**

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1308 (51.5)	1232 (48.5)	2540
Patienten	478 (49.1)	496 (50.9)	974
Gesamt	1786 (50.8)	1728 (49.2)	3514

Die Allele waren in beiden Gruppen gleich verteilt ($\chi^2 = 1.650$; OR = 1.102 (CI = 0.950-1.277); df = 1; p = 0.199).

5.1.4 Analyse des Markers rs2842030 des RGS4-Gens**Genotypverteilung**

Die Verteilung der Genotypfrequenzen der Kontrollgruppe (F = 0.079; df = 1; p = 0.005), der Patientengruppe (F = 0.093; df = 1; p = 0.040) und der Gesamtstichprobe (F = 0.084; df = 1; p = 0.001) waren bei einem Signifikanzniveau von 5% nicht im HWE.

Tabelle 18: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2842030

Gruppe	Genotyp GG n (%)	Genotyp GT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt n
Kontrollen	287 (23.2)	566 (45.8)	384 (31.0)	1237
Patienten	103 (21.1)	217 (44.6)	167 (34.3)	487
Gesamt	390 (22.6)	783 (45.4)	551 (32.0)	1724

Bezüglich der Genotypverteilung (Tabelle 18) war kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Kollektiven feststellbar ($\chi^2 = 1.914$; df = 2; p = 0.384).

Allelverteilung**Tabelle 19: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs2842030**

Gruppe	G-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	1140 (46.1)	1334 (53.9)	2474
Patienten	423 (43.4)	551 (56.6)	974
Gesamt	1563 (45.3)	1885 (54.7)	3448

Es konnte kein Unterschied in den Häufigkeiten der Allele zwischen Patienten und Kontrollprobanden nachgewiesen werden ($\chi^2 = 1.980$; OR = 1.113 (CI = 0.959-1.292); df = 1; p = 0.159).

5.1.5 Analyse des Markers rs10759 des RGS4-Gens**Genotypverteilung**

Die Genotypen des Basenaustauschpolymorphismus rs10759 waren im Kontrollkollektiv (F = 0.077; df = 1; p = 0.006) bei einem Signifikanzniveau von 5% nicht innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt. In der Patientengruppe (F = -0.040; df = 1; p = 0.371) und der Gesamtstichprobe (F = 0.044; df = 1; p = 0.062) war die Genotypverteilung hingegen im HWE.

Tabelle 20: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs10759

Gruppe	Genotyp AA n (%)	Genotyp AC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n
Kontrollen	138 (10.7)	502 (38.9)	652 (50.5)	1292
Patienten	42 (8.3)	221 (43.9)	240 (47.7)	503
Gesamt	180 (10.0)	723 (40.3)	892 (49.7)	1795

Bezüglich der Genotypverteilung war eine Tendenz zur Signifikanz feststellbar ($\chi^2 = 4.835$; df = 2; p = 0.089). Patienten hatten verglichen mit Kontrollen seltener die Genotypen AA und CC an diesem Locus (Tabelle 20).

Allelverteilung**Tabelle 21: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs10759**

Gruppe	A-Allel n (%)	C-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	778 (30.1)	1806 (69.9)	2584
Patienten	305 (30.3)	701 (69.7)	1006
Gesamt	1083 (30.2)	2507 (69.8)	3590

Die Allele waren nicht mit Schizophrenie assoziiert ($\chi^2 = 0.015$; OR = 0.990 (CI = 0.845-1.160); df = 1; p = 0.902).

5.1.6 Analyse des Markers rs2063142 des RGS4-Gens**Genotypverteilung**

Die Genotypverteilung für die Kontrollgruppe (F = 0.077; df = 1; p = 0.006) und die Patientengruppe (F = -0.112; df = 1; p = 0.011) war bei einem Signifikanzniveau von 5% nicht im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Die Verteilung der Genotypen der Gesamtstichprobe (F = 0.024; df = 1; p = 0.299) war innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts.

Tabelle 22: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2063142

Gruppe	Genotyp CC n (%)	Genotyp CT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt n
Kontrollen	108 (8.3)	464 (35.6)	731 (56.1)	1303
Patienten	22 (4.3)	215 (42.1)	274 (53.6)	511
Gesamt	130 (7.2)	679 (37.4)	1005 (55.4)	1814

Bezüglich der Genotypverteilung war ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($\chi^2 = 12.632$; df = 2; p = 0.002). Im Vergleich zu Kontrollen wiesen Patienten an diesem Locus seltener die Genotypen CC und TT auf.

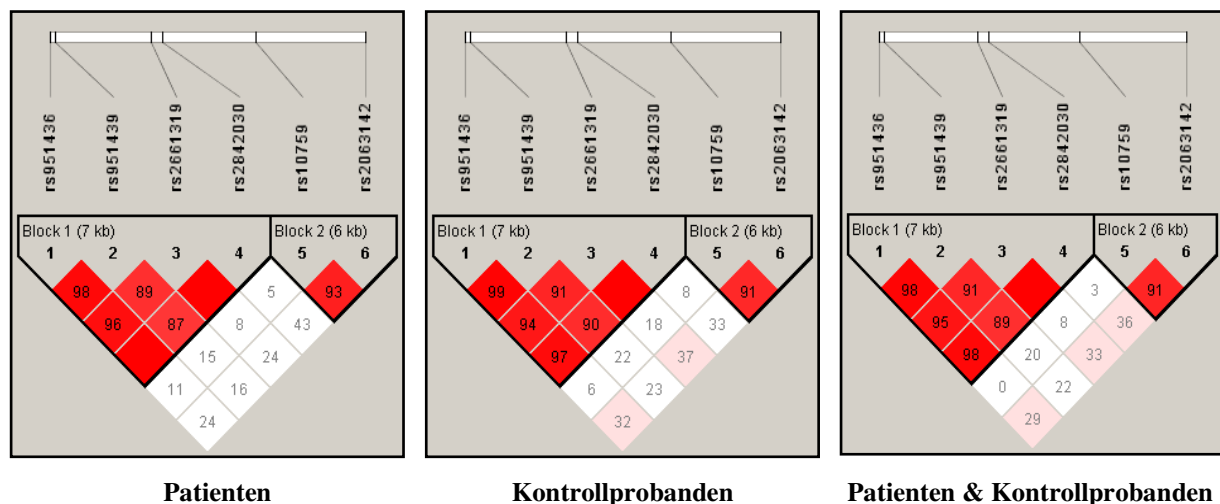
Allelverteilung**Tabelle 23: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs2063142**

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	680 (26.1)	1926 (73.9)	2606
Patienten	259 (25.3)	763 (74.7)	1022
Gesamt	939 (25.9)	2689 (74.1)	3628

Die Allelverteilung dieses Markers erbrachte keine Assoziation mit der Schizophrenie ($\chi^2 = 0.216$; OR = 1.040 (CI = 0.881-1.228); df = 1; p = 0.642).

5.1.7 Analyse der Haplotypen des RGS4-Gens

Mit Hilfe von Haploview (Barrett et al. 2005) wurden sowohl bei Patienten als auch bei Kontrollprobanden und der Gesamtstichprobe zwei LD-Blöcke identifiziert. Wie aus der Abbildung 12 erkennbar, befinden sich die Polymorphismen rs951436, rs951439, rs2661319 und rs2842030 im ersten Block, die beiden SNPs rs10759 und rs2063142 im zweiten.

**Abbildung 12: LD-Blöcke und Haplotypen des RGS4-Gens**

Der Haplotyp rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz A-T-T-G war bei schizophrenen Patienten (38.9%) im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden (42.2%) signifikant seltener vertreten (p = 0.0371). Die restlichen Haplotypen zeigten keine Assoziation mit der Erkrankung (Tabelle 24).

Tabelle 24: geschätzte Haplotypfrequenzen für Patienten und Kontrollen

	Patienten	Kontrollen	χ^2	p
Block 1: rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030				
C-C-C-T	0.468	0.445	1.948	0.163
A-T-T-G	0.389	0.422	4.347	0.037
A-C-T-T	0.050	0.052	0.033	0.856
A-C-T-G	0.044	0.040	0.331	0.565
A-T-C-T	0.028	0.024	0.64	0.424
Block 2: rs10759-rs2063142				
C-T	0.683	0.664	1.445	0.229
A-C	0.226	0.244	1.664	0.197
A-T	0.068	0.070	0.026	0.871
C-C	0.022	0.022	0.028	0.866

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass drei (rs951436, rs951439, rs2063142) der sechs untersuchten SNPs des RGS4-Gens in der vorliegenden Stichprobe signifikant mit Schizophrenie assoziiert waren, für einen SNP (rs10759) war eine Tendenz zur Assoziation feststellbar. Der Haplotyp rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 war ebenfalls mit Schizophrenie assoziiert. In einem nächsten Schritt wurde der Zusammenhang zwischen den gleichen sechs Polymorphismen des RGS4-Gens (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142) und schizophrenieassoziierten neuropsychologischen Endophänotypen analysiert.

5.2 Endophänotypen-Studie

Bei einer Subgruppe von 102 Patienten und 248 Kontrollprobanden wurden mehrere neuropsychologische Endophänotypen erhoben. Die Teilnehmer wurden mit einer umfassenden Testbatterie untersucht. Dabei kamen folgende Testverfahren zum Einsatz: Der *Zahlen-Verbindungs-Test* (ZVT), der *Trail Making Test* (TMT), der *d2 Aufmerksamkeits-Belastungs-Test*, der *3-7 Continuous Performance Test* (CPT), der *Wisconsin Card Sorting Test* (WCST), der *n-back*, der *Wechsler-Gedächtnistest – revidierte Fassung* (WMS-R), der *Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest* (VLMT), der *Verbale und Nonverbale Lerntest* (VLT/NVLT) sowie der *Regensburger Wortflüssigkeitstest* (RWT).

5.2.1 Zusammenhang zwischen den kognitiven Domänen und den Polymorphismen des RGS4-Gens

Eine Faktorenanalyse über alle durchgeführten Tests erbrachte sieben Faktoren, die unterschiedliche kognitive Domänen repräsentieren. Bei diesen Faktoren handelt es sich um: (1) Arbeitsgedächtnis, (2) Wortflüssigkeit, (3) Verbales Gedächtnis, (4) Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, (5) Exekutivfunktionen (WCST), (6) Vigilanz und (7) Visuelles Gedächtnis. In Tabelle 25 sind die einzelnen kognitiven Domänen sowie die Tests bzw. Untertests dargestellt, die auf dem jeweiligen Faktor laden. In Klammern sind die Werte der Tests bzw. Untertests aufgelistet, die den Faktor bilden.

Tabelle 25: Darstellung der sieben kognitiven Domänen sowie der sie bildenden Tests bzw. Untertests

kognitive Domäne	auf dem Faktor ladende Tests bzw. Untertests
Arbeitsgedächtnis	n-back (Anzahl richtiger Lösungen und Reaktionszeit im 1-back und 2-back)
	WMS-R (Summenscore der richtigen Lösungen in den Untertests: Zahlenspanne, Blockspanne)
Wortflüssigkeit	RWT (Anzahl korrekt genannter Wörter und Kategorien)
Verbales Gedächtnis	WMS-R: verbales Gedächtnis unmittelbare Wiedergabe (Summenscore der richtigen Lösungen in den Untertests: Logisches Gedächtnis I und Verbale Paarererkennung I)
	WMS-R: verbales Gedächtnis verzögerte Wiedergabe (Summenscore der richtigen Lösungen in den Untertests: Logisches Gedächtnis II und Verbale Paarererkennung II)
	VLMT: Gesamtlernleistung (Summe richtig genannter Wörter aus den Lerndurchgängen 1 bis 5)
	VLMT: Verlust nach Interferenz (Differenz DG5-DG6)
	VLMT: Verlust nach zeitlicher Verzögerung (Differenz DG5-DG7)
Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit	ZVT (Bearbeitungsdauer)
	TMT A (Bearbeitungsdauer)
	TMT B (Bearbeitungsdauer)
	d2 Aufmerksamkeits-Belastungs-Test (Anzahl korrekt durchgestrichener Zeichen)
Exekutivfunktionen	WCST (Prozentrang aller perseverativer und aller nicht-perseverativer Fehler, Anzahl der Kategorien, die gelöst wurden)

Vigilanz	3-7 CPT (Sensitivität, Diskrimination zwischen Signal und Hintergrund)
Visuelles Gedächtnis	WMS-R: visuelles Gedächtnis unmittelbare Wiedergabe (Summenscore der richtigen Lösungen in den Untertests: Figurales Gedächtnis, visuelle Paarerkennung I, visuelle Wiedergabe I)
	WMS-R: visuelles Gedächtnis verzögerte Wiedergabe (Summenscore der richtigen Lösungen in den Untertests: visuelle Paarerkennung II und visuelle Wiedergabe II)
	NVLT (Anzahl richtiger Lösungen)
	VL (Anzahl richtiger Lösungen)

5.2.1.1 Assoziation zwischen den einzelnen kognitiven Domänen und den Allelen

In einem nächsten Schritt wurde mit Hilfe einer MANOVA analysiert, ob eine Assoziation zwischen den sieben Faktoren und den sechs untersuchten Markern des RGS4-Gens (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142) vorliegt.

Tabelle 26: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den Allelen der RGS4-Marker und den kognitiven Domänen

Marker	F-Wert	df	p
rs951436	1.942	7/695	0.061
rs951439	0.671	7/699	0.697
rs2661319	3.080	7/669	0.003
rs2842030	1.770	7/635	0.091
rs10759	0.796	7/685	0.591
rs2063142	1.253	7/687	0.271

Die multivariate Varianzanalyse (Tabelle 26) erbrachte bezüglich der Allelverteilung eine signifikante Assoziation des Markers rs2661319 mit den sieben kognitiven Faktoren ($p = 0.003$). Zwei weitere Polymorphismen zeigten einen Trend zur Assoziation: rs951436 ($p = 0.061$) und rs2842030 ($p = 0.091$).

Anschließend wurde der Zusammenhang der Allelverteilung des Markers rs2661319 mit den einzelnen sieben kognitiven Faktoren untersucht. Die Analyse erbrachte eine signifikante

Assoziation mit dem Faktor verbales Gedächtnis ($p = 0.012$). Das C-Allel an diesem Locus was mit einer signifikant schlechteren Leistung in den Untertests bzw. Indizes, die den Faktor verbales Gedächtnis bilden, assoziiert. Die Faktoren Arbeitsgedächtnis ($p = 0.099$), Wortflüssigkeit ($p = 0.012$) und Exekutivfunktionen ($p = 0.089$) zeigten einen Trend zur Signifikanz (Tabelle 26). Im Bereich Arbeitsgedächtnis und Exekutivfunktionen war das C-Allel tendenziell mit einer schlechteren Leistung assoziiert, bezüglich des Faktors Wortflüssigkeit zeigte das T-Allel einen tendenziellen Zusammenhang mit einer schlechteren Leistung (Tabelle 27).

Tabelle 27: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen kognitiven Domänen und den Allelen des Polymorphismus rs2661319

	C-Allel (n = 338)	T-Allel (n = 362)	F (df = 1/675)	p
	MW (SD)	MW (SD)		
Arbeitsgedächtnis	-0.041 (1.042)	0.042 (0.967)	2.736	0.099
Wortflüssigkeit	0.011 (0.985)	-0.108 (1.002)	3.136	0.077
Verbales Gedächtnis	-0.079 (1.076)	0.0473 (0.967)	6.404	0.012
Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit	0.032 (1.007)	-0.030 (1.024)	2.153	0.143
Exekutivfunktionen (WCST)	-0.007 (1.001)	0.122 (0.922)	2.893	0.089
Vigilanz	0.028 (0.992)	-0.023 (1.0199)	1.513	0.219
Visuelles Gedächtnis	-0.041 (1.035)	-0.008 (1.040)	0.332	0.565

5.2.1.2 Assoziation zwischen den einzelnen kognitiven Domänen und den Genotypen

Auch bezüglich der Genotypverteilung konnte eine signifikante Assoziation des Markers rs2661319 mit den kognitiven Faktoren eruiert werden ($F = 1.740$; $df = 14/616$; $p = 0.044$). Die Genotypen der restlichen Polymorphismen zeigten keine Assoziation mit den kognitiven Domänen.

Betrachtet man die Zusammenhänge zwischen dem Polymorphismus rs2661319 und den einzelnen sieben kognitiven Domänen, wird eine signifikante Assoziation der Genotypverteilung mit dem kognitiven Faktor verbales Gedächtnis ($p = 0.049$) deutlich. Die weiteren sechs Domänen zeigten keine Assoziation mit dem Marker rs2661319 (Tabelle 28).

Tabelle 28: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen kognitiven Domänen und den Genotypen des Polymorphismus rs2661319

rs2661319: Genotypen			
	F-Wert	df	p-Wert
Arbeitsgedächtnis	1.678	2/313	0.188
Wortflüssigkeit	1.518	2/313	0.221
Verbales Gedächtnis	3.047	2/313	0.049
Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit	1.249	2/313	0.288
Exekutivfunktionen (WCST)	1.345	2/313	0.262
Vigilanz	0.716	2/313	0.490
Visuelles Gedächtnis	1.625	2/313	0.199

5.2.2 Zusammenhang zwischen verbalem Gedächtnis und Polymorphismen des RGS4-Gens

In einem nächsten Schritt wurde der Zusammenhang der Leistungen in den einzelnen Indizes bzw. Untertests, die den Faktor verbales Gedächtnis bilden, und den sechs RGS4-Polymorphismen (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142) untersucht. Dazu wurde eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) mit den Covariablen Status (Patienten vs. Kontrollprobanden), Geschlecht und Schulbildung durchgeführt. Die Genotypen bzw. Allele gingen als unabhängige Variablen (UV), die Leistungen in den einzelnen Indizes bzw. Untertests als abhängige Variablen (AV) in die Berechnung mit ein.

Die kognitive Domäne verbales Gedächtnis wird von zwei Indizes des WMS-R (unmittelbare Wiedergabe und verzögerte Wiedergabe) sowie von drei Indizes des VLMT (Gesamtlernleistung, Verlust nach Interferenz und Verlust nach zeitlicher Verzögerung) erfasst. Der Index Verbales Gedächtnis unmittelbare Wiedergabe erfasst die Leistung der Subtests *Logisches Gedächtnis I* und *Verbale Paarerkenntnis I*. Der Index verzögerte Wiedergabe wird aus den Leistungen der Untertests *Logisches Gedächtnis II* und *Verbale*

Paarererkennung II gebildet. Die Gesamtlernleistung des VLMT ist die Summe der richtig genannten Wörter aus den Lerndurchgängen 1-5. Die Differenz DG5-DG6 bildet den Verlust der Lernleistung nach Interferenz ab. Der Verlust nach zeitlicher Verzögerung wird von der Differenz der Lernleistung DG5-DG7 erfasst.

5.2.2.1 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs951436

Eine signifikante Assoziation war zwischen den Allelen des Markers rs951436 und der Leistung im Index verzögerte Wiedergabe (WMS-R) des Faktors verbales Gedächtnis feststellbar ($F = 5.337$; $df = 1/898$; $p = 0.021$). C-Allel-Träger erbrachten signifikant schlechtere Leistungen in diesem Bereich. Die restlichen Indizes zeigten keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Marker (Tabelle 29).

Tabelle 29: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Indizes und den Allelen und Genotypen des Polymorphismus rs951436

	Allele				Genotypen				
	A-Allel (n = 445)	C-Allel (n = 463)	F (df = 1/898)	p	Genotyp AA (n = 106)	Genotyp AC (n = 233)	Genotyp CC (n = 115)	F (df = 2/417)	p
	MW (SD)	MW (SD)			MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
WMS-R									
unmittelbare Wiedergabe	79.54 (16.38)	78.74 (17.31)	2.266	0.133	78.80 (17.08)	80.22 (15.76)	77.24 (18.70)	1.126	0.325
verzögerte Wiedergabe	23.84 (4.63)	23.39 (4.73)	5.337	0.021	23.76 (4.89)	23.92 (4.41)	22.85 (4.99)	2.158	0.117
VLMT									
Gesamt-lernleistung	53.08 (10.08)	52.50 (10.16)	1.412	0.235	53.05 (10.51)	53.09 (9.72)	51.91 (10.60)	0.581	0.560
DG5-DG6	1.71 (1.91)	1.64 (1.95)	0.163	0.686	1.79 (1.89)	1.64 (1.93)	1.64 (1.99)	0.020	0.980
DG5-DG7	2.01 (2.05)	2.08 (2.06)	2.490	0.115	2.08 (2.03)	1.95 (2.07)	2.21 (2.05)	1.242	0.290

5.2.2.2 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs951439

Die statistische Analyse erbrachte bezüglich der Allele und Genotypen des Markers rs951439 keinen Zusammenhang mit den Leistungen in den einzelnen Indizes der kognitiven Domäne verbales Gedächtnis (Tabelle 30).

Tabelle 30: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Indizes und den Allelen und Genotypen des Polymorphismus rs951439

	Allele				Genotypen				
	C-Allel (n = 545)	T-Allel (n = 365)	F (df = 1/900)	p	Genotyp CC (n = 161)	Genotyp CT (n = 223)	Genotyp TT (n = 71)	F (df = 2/441)	p
	MW (SD)	MW (SD)			MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
WMS-R									
unmittelbare Wiedergabe	78.68 (17.37)	79.40 (16.36)	2.219	0.137	77.75 (18.37)	80.02 (15.81)	78.42 (17.25)	1.832	0.161
verzögerte Wiedergabe	23.48 (4.68)	23.72 (4.73)	1.318	0.251	23.17 (4.81)	23.92 (4.47)	23.42 (5.14)	1.424	0.242
VLMT									
Gesamt- lernleistung	52.66 (10.08)	52.81 (10.29)	0.551	0.458	52.27 (10.38)	53.22 (9.67)	52.18 (11.23)	1.019	0.362
DG5-DG6	1.66 (1.96)	1.71 (1.88)	0.155	0.694	1.68 (2.00)	1.61 (1.90)	1.86 (1.85)	0.425	0.654
DG5-DG7	2.07 (2.05)	2.06 (2.06)	0.437	0.509	2.11 (2.01)	2.02 (2.11)	2.13 (1.99)	0.374	0.688

5.2.2.3 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs2661319

Die Prüfung des Zusammenhangs zwischen den einzelnen Indizes und dem SNP rs2661319 erbrachte einen tendenziell signifikanten Zusammenhang zwischen den Allelen des Markers und den Resultaten im Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R ($F = 3.626$; $df = 1/860$; $p = 0.057$). Personen mit einem T-Allel an diesem Locus erzielten schlechtere Leistungen im Index verzögerte Wiedergabe (WMS-R). Eine Tendenz zur Signifikanz war auch bezüglich des Zusammenhangs zwischen den Allelen und dem Index DG5-DG7 (VLMT) feststellbar (F

= 3.218; df = 1/860; p = 0.073). Träger des T-Allels erbrachten tendenziell schlechtere Leistungen im Index Verlust nach zeitlicher Verzögerung (DG5-DG7; Tabelle 31).

Tabelle 31: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Indizes und den Allelen und Genotypen des Polymorphismus rs2661319

	Allele				Genotypen				
	C-Allel (n = 420)	T-Allel (n = 450)	F (df = 1/860)	p	Genotyp CC (n = 104)	Genotyp CT (n = 212)	Genotyp TT (n = 119)	F (df = 2/421)	p
	MW (SD)	MW (SD)			MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
WMS-R									
unmittelbare Wiedergabe	79.66 (16.40)	79.16 (17.13)	1.228	0.268	79.32 (16.63)	80.00 (16.24)	78.42 (17.92)	0.477	0.621
verzögerte Wiedergabe	23.91 (4.61)	23.52 (4.61)	3.626	0.057	23.91 (4.76)	23.91 (4.48)	23.18 (4.71)	1.585	0.206
VLMT									
Gesamt- lernleistung	52.96 (10.28)	52.52 (10.02)	1.681	0.195	53.09 (10.61)	52.83 (10.00)	52.24 (10.01)	0.734	0.481
DG5-DG6	1.69 (1.92)	1.64 (1.93)	0.553	0.457	1.74 (1.88)	1.63 (1.96)	1.64 (1.92)	0.205	0.815
DG5-DG7	2.02 (2.06)	2.11 (2.07)	3.218	0.073	2.06 (2.08)	1.99 (2.04)	2.22 (2.10)	1.165	0.313

5.2.2.4 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs2842030

Eine signifikante Assoziation konnte zwischen den Allelen des Markers rs2842030 und den Leistungen im Index unmittelbare Wiedergabe des WMS-R gefunden werden ($F = 4.726$; df = 1/826; p = 0.030). Personen mit einem T-Allel an diesem Locus erbrachten bezüglich dieses Faktors signifikant schlechtere Leistungen. Eine tendenzielle Assoziation ergab sich zwischen den Allelen des Markers und den Leistungen im Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R ($F = 3.338$; df = 1/826; p = 0.068). Das T-Allel an diesem Locus war mit einer schlechteren Leistung bezüglich dieses Index assoziiert (Tabelle 32).

Tabelle 32: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Indizes und den Allelen und Genotypen des Polymorphismus rs2842030

	Allele				Genotypen				
	G-Allel (n = 352)	T-Allel (n = 484)	F (df = 1/826)	p	Genotyp GG (n = 83)	Genotyp GT (n = 186)	Genotyp TT (n = 149)	F (df = 2/404)	p
	MW (SD)	MW (SD)			MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
WMS-R									
unmittelbare Wiedergabe	79.63 (16.41)	78.18 (17.56)	4.726	0.030	80.80 (16.99)	78.92 (15.89)	77.92 (18.57)	2.235	0.108
verzögerte Wiedergabe	23.71 (4.64)	23.29 (4.73)	3.338	0.068	23.86 (5.03)	23.59 (4.28)	23.11 (5.00)	1.502	0.224
VLMT									
Gesamt-lernleistung	52.78 (10.29)	52.53 (10.15)	0.406	0.524	52.51 (11.02)	53.03 (9.66)	52.22 (10.46)	0.527	0.591
DG5-DG6	1.74 (1.91)	1.62 (1.98)	0.024	0.878	1.75 (1.83)	1.74 (1.99)	1.54 (1.97)	0.097	0.907
DG5-DG7	2.00 (2.04)	2.01 (2.05)	0.913	0.340	1.99 (2.05)	2.01 (2.05)	2.02 (2.06)	0.378	0.685

5.2.2.5 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs10759

Die Verteilung der Allele war mit den Leistungen in den Indizes unmittelbare Wiedergabe des WMS-R ($F = 3.695$; $df = 1/886$; $p = 0.055$) und Gesamtlernleistung des VLMT ($F = 6.809$; $df = 1/886$; $p = 0.009$) assoziiert. Das A-Allel war mit einer schlechteren Testleistung in beiden Untertests assoziiert. Bezüglich der Testresultate im Untertest Gesamtlernleistung des VLMT zeigte sich auch ein Zusammenhang mit der Genotypverteilung ($F = 3.072$; $df = 2/434$; $p = 0.047$). Personen mit dem Genotyp AA an diesem Locus erbrachten im Vergleich zu Personen mit einem der anderen beiden Genotypvarianten schlechtere Leistungen.

Tabelle 33: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Indizes und den Allelen und Genotypen des Polymorphismus rs10759

	Allele				Genotypen				
	A-Allel (n = 282)	C-Allel (n = 614)	F (df = 1/886)	p	Genotyp AA (n = 43)	Genotyp AC (n = 196)	Genotyp CC (n = 209)	F (df = 2/434)	p
	MW (SD)	MW (SD)			MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
WMS-R									
unmittelbare Wiedergabe	78.64 (17.18)	79.49 (16.60)	3.695	0.055	78.42 (16.76)	78.74 (17.44)	79.84 (16.22)	1.492	0.226
verzögerte Wiedergabe	23.57 (4.47)	23.66 (4.70)	0.916	0.339	23.36 (3.50)	23.66 (4.85)	23.66 (4.64)	0.209	0.812
VLMT									
Gesamt-lernleistung	52.08 (9.93)	53.14 (10.21)	6.809	0.009	50.47 (8.08)	52.79 (10.60)	53.31 (10.04)	3.072	0.047
DG5-DG6	1.66 (1.88)	1.67 (1.95)	0.438	0.508	1.65 (1.76)	1.66 (1.94)	1.67 (1.96)	0.177	0.838
DG5-DG7	2.06 (2.08)	2.00 (2.04)	0.824	0.364	2.14 (2.13)	2.03 (2.07)	1.99 (2.04)	0.410	0.664

5.2.2.6 Assoziation zwischen einzelnen Indizes und dem Marker rs2063142

Ein tendenziell signifikanter Zusammenhang wurde zwischen der Allelverteilung am Locus rs2063142 und dem Index unmittelbare Wiedergabe (WMS-R) gefunden ($F = 2.878$; $df = 1/892$; $p = 0.090$). Träger des C-Allels erzielten in diesem Index schlechtere Leistungen. Weitere Assoziationen zwischen Allelen und Indizes konnten nicht gefunden werden – auch die Analyse der Genotypverteilung erbrachte keine signifikanten Zusammenhänge (Tabelle 34).

Tabelle 34: Darstellung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Indizes und den Allelen und Genotypen des Polymorphismus rs2063142

	Allele				Genotypen				
	C-Allel (n = 247)	T-Allel (n = 655)	F (df = 1/892)	p	Genotyp CC (n = 30)	Genotyp CT (n = 187)	Genotyp TT (n = 234)	F (df = 2/437)	p
	MW (SD)	MW (SD)			MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
WMS-R									
unmittelbare Wiedergabe	78.37 (17.15)	79.26 (16.96)	2.878	0.090	80.53 (16.50)	77.67 (17.39)	79.89 (16.79)	1.910	0.149
verzögerte Wiedergabe	23.44 (4.58)	23.60 (4.73)	1.011	0.315	23.60 (3.64)	23.39 (4.86)	23.68 (4.69)	0.379	0.685
VLMT									
Gesamt-lernleistung	52.07 (9.94)	52.91 (10.19)	2.046	0.153	50.47 (7.22)	52.58 (10.64)	53.04 (10.02)	0.433	0.649
DG5-DG6	1.63 (1.85)	1.69 (1.95)	0.048	0.827	1.30 (1.64)	1.73 (1.91)	1.67 (1.97)	1.093	0.336
DG5-DG7	2.12 (1.98)	2.02 (2.06)	0.981	0.322	2.00 (1.78)	2.16 (2.04)	1.96 (2.06)	0.649	0.523

5.2.3 Zusammenhang zwischen verbalem Gedächtnis und den Haplotypen des RGS4-Gens

Zunächst wurde der Zusammenhang zwischen den einzelnen kognitiven Domänen und den Haplotypen des RGS4-Gens untersucht. Diese Analyse erbrachte eine signifikante Assoziation des aus den SNPs rs951436, rs951439, rs2661319 und rs2842030 gebildeten Haplotypen mit der Allelsequenz A-T-T-G mit dem Faktor verbales Gedächtnis. Personen mit diesem Haplotypen zeigten signifikant bessere Leistungen ($p\text{-sim} = 0.05$) bezüglich des Faktors verbales Gedächtnis.

In einem nächsten Schritt wurde der Zusammenhang zwischen den Haplotypen und den einzelnen Indizes des Faktors verbales Gedächtnis untersucht. Diese Prüfung erbrachte eine signifikante Assoziation des komplementären Haplotypen (SNPs rs951436, rs951439, rs2661319 und rs2842030) mit der Allelsequenz C-C-C-T mit der Leistung im Index

verzögerte Wiedergabe des WMS-R. Die Allelsequenz C-C-C-T dieses Haplotypen war mit einer schlechteren Leistung in diesem Subtest assoziiert ($p\text{-sim} = 0.04$).

5.3 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse

Assoziation des RGS4-Gens mit Schizophrenie

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie waren drei der sechs untersuchten Polymorphismen des RGS4-Gens (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142) signifikant mit Schizophrenie assoziiert, ein SNP zeigte einen Trend zur Assoziation.

- (1) Bezüglich des SNP rs951436 wurde ein signifikanter Zusammenhang mit der Erkrankung festgestellt. Schizophrene Patienten waren in der untersuchten Stichprobe signifikant häufiger Träger des C-Allels an diesem Locus ($p = 0.017$) und wiesen häufiger den Genotyp CC auf ($p = 0.055$).
- (2) Bezogen auf den Marker rs951439 wurde eine Assoziation des C-Allels mit Schizophrenie gefunden ($p = 0.020$). Der Genotyp CC war bei schizophrenen Patienten tendenziell häufiger vertreten ($p = 0.069$).
- (3) Ein tendenzieller Zusammenhang konnte für den Marker rs10759 mit Schizophrenie gefunden werden. Patienten hatten tendenziell seltener die Genotypen AA und CC an diesem Locus ($p = 0.089$).
- (4) Ein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung wurde für den Basenaustauschpolymorphismus rs2063142 eruiert. Patienten wiesen verglichen mit Kontrollprobanden an diesem Locus signifikant seltener die Genotypen CC und TT auf ($p = 0.002$).

Der Haplotyp rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz A-T-T-G war bei schizophrenen Patienten (38.9%) im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden (42.2%) signifikant seltener vertreten ($p = 0.0371$).

Tabelle 35: zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Marker/Haplotypen	mit Schizophrenie assoziierte Allele und Genotypen
rs951436	C-Allel ↑↑ (p = 0.017), Genotyp CC ↑ (p = 0.055)
rs951439	C-Allel ↑↑ (p = 0.020), Genotyp CC ↑ (p = 0.069)
rs2661319	-
rs2842030	-
rs10759	Genotypen AA ↓, CC ↓ (p = 0.089)
rs2063142	Genotypen CC ↓↓, TT ↓↓ (p = 0.002)
Haplotyp (rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030)	A-T-T-G ↓↓ (p = 0.0371)

↑ Allel/Genotyp häufiger; ↓ Allel/Genotyp seltener bei Schizophreniepatienten;

↑, ↓ tendenziell assoziiert, ↑↑, ↓↓ signifikant assoziiert

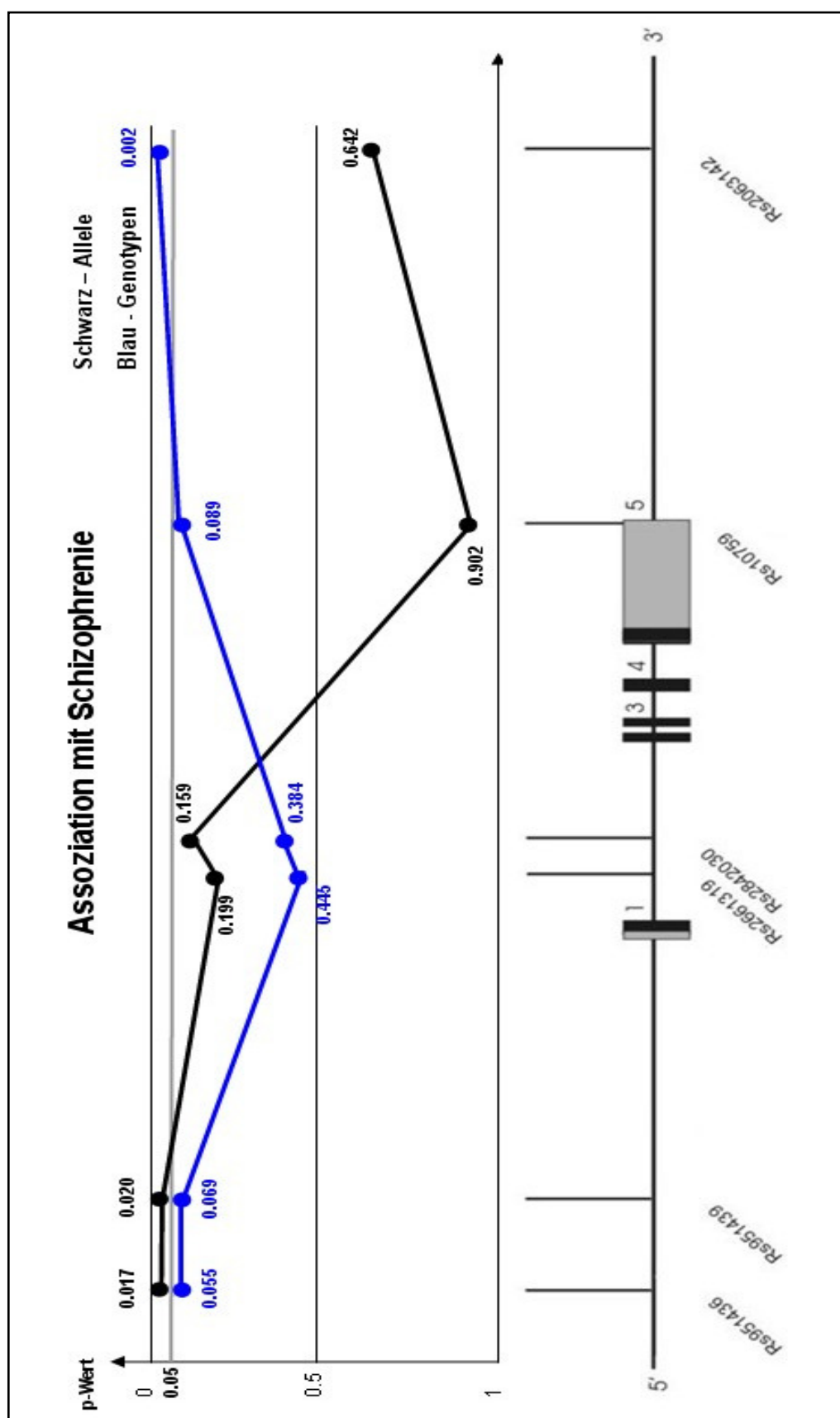


Abbildung 13: Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen den untersuchten RGS4-Polymorphismen und der Schizophrenie

Assoziation des RGS4-Gens mit neuropsychologischen Endophänotypen

Im Rahmen der vorliegenden Endophänotypen-Studie wurde eine signifikante Assoziation zwischen dem Marker rs2661319 und dem Faktor verbales Gedächtnis gefunden - dies sowohl auf die Genotyp- ($p = 0.049$) als auch auf die Allelverteilung ($p = 0.012$) bezogen. Die Analyse des Zusammenhangs der Untertests bzw. Indizes, die auf diesem Faktor laden, und den sechs untersuchten SNPs des RGS4-Gens (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142) erbrachte vier signifikante Assoziationen sowie einen Trend:

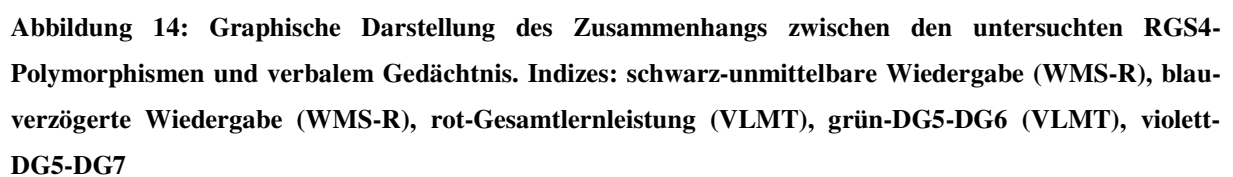
- (1) Der Marker rs951436 zeigte einen signifikanten Zusammenhang zur Testleistung im Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R. Personen mit dem C-Allel an diesem Locus erbrachten signifikant schlechtere Leistungen in diesem Bereich ($p = 0.021$).
- (2) Das T-Allel des SNP rs2661319 war tendenziell mit einer schlechteren Leistung im Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R ($p = 0.057$) sowie einer schlechteren Leistung im Index Verlust nach zeitlicher Verzögerung DG5-DG7 des VLMT ($p = 0.073$) assoziiert.
- (3) Das T-Allel des Basenaustauschpolymorphismus rs2842030 war mit einer schlechteren Leistung im Index unmittelbare Wiedergabe des WMS-R ($p = 0.030$) sowie einer tendenziell schlechteren Leistung im Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R ($p = 0.068$) assoziiert.
- (4) Das A-Allel des Markers rs10759 war mit einer tendenziell schlechteren Testleistung im Bereich unmittelbare Wiedergabe des WMS-R ($p = 0.055$) und einer signifikant schlechteren Leistung in der Subskala Gesamtleistung des VLMT ($p = 0.009$) assoziiert. Damit konsistent ist auch der Befund, dass der Genotyp AA an diesem Locus mit signifikant schlechteren Testleistungen in der Subskala Gesamtlernleistung des VLMT ($p = 0.047$) assoziiert war.
- (5) Das C-Allel des SNP rs2063142 war tendenziell mit einer schlechteren Leistung im Index unmittelbare Wiedergabe des WMS-R ($p = 0.090$) assoziiert.

Die Allelsequenz A-T-T-G des Haplotypen rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 war mit einer signifikant besseren Leistung bezüglich des Faktors verbales Gedächtnis assoziiert ($p\text{-sim} = 0.05$). Der komplementäre Haplotyp mit der Allelsequenz C-C-C-T war mit einer

signifikant schlechteren Leistung im Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R assoziiert ($p\text{-sim} = 0.04$).

Tabelle 36: zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der Endophänotypen-Studie

Marker	assoziierte Allele und Genotypen	p-Werte
rs951436	C-Allel assoziiert mit schlechterer Leistung im Index verzögerte Wiedergabe (WMS-R)	0.021
rs951439	-	-
rs2661319	T-Allel tendenziell assoziiert mit schlechterer Leistung im Index verzögerte Wiedergabe (WMS-R) und Verlust nach zeitlicher Verzögerung DG5-DG7 (VLMT)	0.057 (WMS-R); 0.073 (VLMT)
rs2842030	T-Allel assoziiert mit schlechterer Leistung im Index unmittelbare Wiedergabe (WMS-R); tendenziell assoziiert mit schlechterer Leistung im Index verzögerte Wiedergabe (WMS-R)	0.030 (unmittelbar) 0.068 (verzögert)
rs10759	A-Allel tendenziell assoziiert mit schlechterer Leistung im Index unmittelbare Wiedergabe (WMS-R); A-Allel und AA Genotyp assoziiert mit schlechterer Leistung im Index Gesamtlernleistung (VLMT).	0.055 (WMS-R) 0.009 (A-Allel-VLMT) 0.047 (AA Genotyp-VLMT)
rs2063142	C-Allel tendenziell assoziiert mit schlechterer Leistung im Index unmittelbare Wiedergabe (WMS-R)	0.090
Haplotyp (rs951436- rs951439- rs2661319- rs2842030)	A-T-T-G assoziiert mit besserer Leistung im Faktor verbales Gedächtnis	$p\text{-sim} = 0.05$
Haplotyp (rs951436- rs951439- rs2661319- rs2842030)	C-C-C-T assoziiert mit schlechterer Leistung im Index verzögerte Wiedergabe (WMS-R)	$p\text{-sim} = 0.04$



6. Diskussion

6.1 Darstellung und inhaltliche Interpretation der Ergebnisse

Das RGS4-Gen wird aufgrund seiner Position und seiner Funktion als Kandidatengen für Schizophrenie diskutiert. Es befindet sich unmittelbar neben dem chromosomalen Locus 1q21-22, welcher mit Schizophrenie gekoppelt zu sein scheint (Brzustowicz et al. 2000). RGS4-Proteine regulieren die zeitliche Koordination und die Dauer von G-Protein gekoppelter Signaltransduktion, wobei sie selektiv auf bestimmte Transmittersysteme wirken (Abramow-Newerly et al. 2006). Einige dieser Neurotransmittersysteme werden als relevant für die Pathophysiologie und auch die Behandlung der Schizophrenie angesehen wie beispielsweise das dopaminerge (Yan et al. 1997, Ghavami et al. 2004), das serotonerge (Beyer et al. 2004, Ghavami et al. 2004) und das glutamaterge System (Saugstad et al. 1998, De Blasi et al. 2001). Darüber hinaus ist das RGS4-Transkript von allen humanen RGS-Transkripten am stärksten im Gehirn angereichert (Larminie et al. 2004) und bei schizophrenen Patienten im präfrontalen, visuellen und motorischen Kortex (Mirnics et al. 2001) sowie in einigen weiteren Hirnregionen (Erdely et al. 2006, Bowden et al. 2007) signifikant reduziert. Die RGS4-Polymorphismen, die zu einer Risikosteigerung an einer Schizophrenie zu erkranken, beitragen könnten, sind bislang unbekannt.

Neben der hier vorliegenden Arbeit berichten insgesamt acht weitere Assoziationsstudien (Chowdari et al. 2002, Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Fallin et al. 2005, Zhang et al. 2005, So et al. 2008) sowie eine Metaanalyse (Talkowski et al. 2006) eine Assoziation oder eine Tendenz zur Assoziation zwischen Basenaustauschpolymorphismen und/oder Haplotypen des RGS4-Gens und der Schizophrenie. Neun Assoziationsstudien (Sobell et al. 2005, Liu et al. 2006, Guo et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, Rizig et al. 2006 & Puri et al. 2007, Vilella et al. 2007, Wood et al. 2007, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009) und zwei Metaanalysen (Guo et al. 2006, Li & He 2006) konnten hingegen keinen derartigen Zusammenhang finden. Auch in den genomweiten Assoziationsstudien (GWAs) mit individueller Genotypisierung (Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008) und gepoolter Genotypisierung (Mah et al. 2006, Shifman et al. 2008, Kirov et al. 2008) wurde kein Zusammenhang zwischen RGS4-Polymorphismen und Schizophrenie gefunden.

Da die ätiologische Heterogenität der klinischen Diagnose Schizophrenie für die inkonsistente Ergebnislage in Bezug auf den Zusammenhang zwischen dem RGS4-Gen und der Schizophrenie mitverantwortlich gemacht wird, gewinnt die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen RGS4 und anderen Phänotypen beispielsweise intermediärer Phänotypen immer mehr an Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob sechs Polymorphismen (rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142) sowie Haplotypen des RGS4-Gens mit Schizophrenie und neuropsychologischen Endophänotypen assoziiert sind. In die Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden 1315 gesunde Kontrollprobanden und 504 an Schizophrenie erkrankte Personen eingeschlossen. Eine Subgruppe von 248 Kontrollprobanden und 102 schizophrenen Patienten wurde im Rahmen der Endophänotypen-Studie mit einer neuropsychologischen Testbatterie untersucht. Tabelle 37 ist eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie zu entnehmen.

Tabelle 37: zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung

Marker	Assoziation mit Schizophrenie	Assoziation mit Endophänotypen
rs951436	C-Allel ↑↑ ¹ (p = 0.017), Genotyp CC ↑ (p = 0.055)	C-Allel ↓↓ ² WMS-R (p = 0.021)
rs951439	C-Allel ↑↑ (p = 0.020), Genotyp CC ↑ (p = 0.069)	-
rs2661319	-	T-Allel ↓ WMS-R (p = 0.057), ↓ VLMT (p = 0.073)
rs2842030	-	T-Allel ↓↓ WMS-R (unmittelbar: p = 0.030, verzögert: p = 0.068)
rs10759	Genotypen AA ↓, CC ↓ (p = 0.089)	A-Allel ↓ WMS-R (p = 0.055); A-Allel ↓↓ VLMT (p = 0.009), Genotyp AA ↓↓ VLMT (p = 0.047)
rs2063142	Genotypen CC ↓↓, TT ↓↓ (p = 0.002)	C-Allel ↓ WMS-R (p = 0.090)
Haplotyp (rs951436- rs951439- rs2661319- rs2842030)	A-T-T-G ↓↓ (p = 0.0371)	C-C-C-T ↓↓ WMS-R (p-sim = 0.04)

¹ Assoziation mit Schizophrenie: ↑ Allel/Genotyp häufiger; ↓ Allel/Genotyp seltener bei Schizophreniepatienten; ↑, ↓ tendenziell assoziiert, ↑↑, ↓↓ signifikant assoziiert

² Assoziation mit Endophänotypen: ↓↓ signifikant schlechtere Leistung, ↓ tendenziell schlechtere Leistung im jeweiligen Index

Tabelle 38: zusammenfassende Darstellung der signifikanten Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung und anderer Studien

Studie	Ethnizität	assoziierte RGS4 Allele, Genotypen und Haplotypen ¹						
		rs951436	rs951439	rs2661319	rs2842030	rs10759	rs2063142	rs951436-rs951439- rs2661319-rs2842030 ²
Schizophrenie								
vorliegende Studie	kaukasisch	C-Allel	C-Allel				AC-Genotyp ³	A-T-T-G ⁴
Pittsburgh-Sample (Chowdari et al. 2002)	kaukasisch	C-Allel						C-C-C-x
NIMH-Sample (Chowdari et al. 2002)	kaukasisch	A-Allel		T-Allel				A-T-T-x
Neu Delhi-Sample (Chowdari et al. 2002)	indisch							A-T-T-x
Williams et al. (2004)	kaukasisch	A-Allel		T-Allel				A-x-T-x
Morris et al. (2004)	kaukasisch	C-Allel ³	C-Allel					C-C-C-x
Chen et al. (2004)	kaukasisch	C-Allel ³		C-Allel				C-x-C-x
Cordeiro et al. (2005)	brasilianisch			C-Allel ³				C-C-C-x
Fallin et al. (2005)	aschkenasische Juden		γ ⁵		γ ⁵			
Zhang et al. (2005)	kaukasisch		T-Allel					A-T-x-x
Talkowski et al. (2006)	kaukasisch, brasilianisch, chinesisches	A-Allel	T-Allel					C-C-C-x A-T-T-x
So et al. (2008)	chinesisches							C-C-C-x

Studie	Ethnizität	assoziierte RGS4 Allele, Genotypen und Haplotypen ¹					
		rs951436	rs951439	rs2661319	rs2842030	rs10759 rs2063142	rs951436-rs951439- rs2661319-rs2842030 ²
Endophänotypen							
vorliegende Studie	kaukasisch	C-Allel		T-Allel ³	T-Allel	A-Allel, AA-Genotyp	C-C-C-T ⁶
Prasad et al. (2005)	kaukasisch	AA, AC ⁷		TT, TC ⁷			
Buckholtz et al. (2007)	kaukasisch	A-Allel ⁸					
So et al. (2008)	chinesisch	AA ⁹					A-T-T-x ⁹
Stefanis et al. (2008)	kaukasisch			T-Allel ¹⁰			C-C-C-x ¹¹
Prasad et al. (2009)	kaukasisch		γ ¹²	γ ¹²			

¹ der Übersicht halber werden in dieser Tabelle die Allele und Genotypen entsprechend der vorliegenden Untersuchung angegeben

² für den Haplotyp rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 wurden Marker des in der Literatur untersuchten Haplotyps rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 verwendet

³ Allel/Genotyp war tendenziell assoziiert

⁴ der Haplotyp A-T-T-G kam in der vorliegenden Stichprobe bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden signifikant seltener vor

⁵ die mit der Erkrankung assoziierten Allele wurden von Fallin et al. (2005) nicht angegeben

⁶ die Haplotyp war in der vorliegenden Studie assoziiert mit einer signifikant schlechteren Leistung im Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R

⁷ die Genotypen waren mit einem reduzierten Volumen des DLPFC assoziiert

⁸ das A-Allel war assoziiert mit veränderter neuronaler Response, selektiv beeinträchtigter Konnektivität, Reduktion der grauen und weißen Hirnsubstanz sowie einer verlangsamten Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit

⁹ assoziiert mit einer schlechteren Leistung im Untertest „Information“ des WAIS

¹⁰ assoziiert mit einer erhöhten Fehlerzahl in einer Antisakkaden-Aufgabe

¹¹ assoziiert mit einer schlechteren Leistung in der räumlichen Arbeitsgedächtnisaufgabe

¹² die assoziierten Allele wurden bei Prasad et al. (2009) nicht angegeben

Die beiden RGS4-Polymorphismen rs951436 und rs951439 befinden sich in der 5'UTR des RGS4-Gens und somit in der vermuteten Promotorregion des Gens. Daher ist ein Effekt dieser Polymorphismen auf die Regulierung der Genexpression denkbar. Die Befunde der vorliegenden Untersuchungen deuten auf einen Zusammenhang des C-Allels des Markers rs951436 und Schizophrenie hin ($p = 0.017$). Auch der Genotyp CC war tendenziell mit der Erkrankung assoziiert ($p = 0.055$, Tabelle 37, Seite 136). Andere Autoren (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh-Sample), Morris et al. 2004, Chen et al. 2004) berichten ebenfalls eine (tendenzielle) Assoziation des C-Allels an diesem Locus mit Schizophrenie (Tabelle 38, Seite 137&138). Jedoch wurden auch Zusammenhänge der Schizophrenie mit dem A-Allel in diesem SNP berichtet (Chowdari et al. 2002 (NIMH-Sample), Williams et al. 2004, Talkowski et al. 2006, Tabelle 38, Seite 137&138). In anderen Assoziationsstudien (Chowdari et al. 2002 (Neu Delhi-Sample), Cordeiro et al. 2005, Zhang et al. 2005, Sobell et al. 2005, Liu et al. 2006, Guo et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, Rizig et al. 2006 & Puri et al. 2007, Wood et al. 2007, So et al. 2008, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009, Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75), Metaanalysen (Guo et al. 2006, Li & He 2006, Tabelle 2c, Seite 76) und GWAs mit individueller Genotypisierung (Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008, Tabelle 2c, Seite 76) und mit gepoolter Genotypisierung (Shifman et al. 2008, Kirov et al. 2008, Tabelle 2c, Seite 76) wurde kein Zusammenhang zwischen dem Marker rs951436 und Schizophrenie gefunden.

In der vorliegenden Studie wies das C-Allel im SNP rs951439 einen Zusammenhang mit Schizophrenie auf ($p = 0.020$), während der Genotyp CC tendenziell mit der Erkrankung assoziiert war ($p = 0.069$, Tabelle 37, Seite 136). Dieser Befund stimmt mit den Ergebnissen einer anderen Studie überein (Morris et al. 2004), während in zwei weiteren Untersuchungen (Zhang et al. 2005 (kaukasisches Sample), Talkowski et al. 2006) ein Zusammenhang des T-Allels im Marker rs951439 und der Erkrankung berichtet wurde (Tabelle 38, Seite 137&138). Fallin et al. (2005) fanden ebenfalls eine signifikante Assoziation des SNP rs951439 und Schizophrenie, ohne jedoch das assoziierte Allel anzugeben. In anderen Assoziationsstudien (Chowdari et al. 2002, Williams et al. 2004, Chen et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Zhang et al. 2005 (chinesisches Sample), Sobell et al. 2005, Liu et al. 2006, Guo et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, Rizig et al. 2006 & Puri et al. 2007, So et al. 2008, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009, Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75), Metaanalysen (Guo et al. 2006, Li & He 2006, Tabelle 2c, Seite 76) und GWAs (Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et

al. 2008, Shifman et al. 2008, Kirov et al. 2008, Tabelle 2c, Seite 76) wurde kein Zusammenhang zwischen dem Locus rs951439 und Schizophrenie gefunden.

Eine mögliche Erklärung für diese inkonsistenten Ergebnisse wäre, dass eine Risikosteigerung für schizophrene Erkrankungen von einem oder mehreren bislang unidentifizierten RGS4-Markern oder Loci in der Region des RGS4-Gens vermittelt wird, die sich mit den hier untersuchten Polymorphismen im Kopplungsungleichgewicht befinden. Hinweise darauf liefert eine Untersuchung in der 29 Mikrosatelliten in der chromosomalen Region 1q23.3 genotypisiert wurden, darunter sowohl RGS4-Polymorphismen auch solche des CAPON-Gens (Puri et al. 2007). Die Analysen erbrachten keine signifikanten Assoziationen zwischen RGS4- und CAPON-Polymorphismen und der Schizophrenie. Jedoch wurden Assoziationen der Erkrankung mit dem chromosomalen Locus UHMK1 gefunden, der in 5'-Richtung vor dem RGS4-Gen lokalisiert ist und sich sowohl mit dem RGS4- als auch dem CAPON-Locus im Kopplungsungleichgewicht befindet (Puri et al. 2007). Bei den risikosteigernden genetischen Varianten in chromosomaler Nähe des RGS4-Gens oder dem Gen selbst könnte es sich möglicherweise um eine oder mehrere selten vorkommende Suszeptibilitätsvarianten handeln. Um diese Hypothese zu prüfen, bedarf es umfangreicher Sequenzierungen des RGS4-Gens und der umgebenden Region bei vielen Personen. Denkbar wäre auch, dass die unterschiedlichen Allele an diesen Loci (rs951436, rs951439) selbst einen Einfluss auf die Suszeptibilität haben und somit möglicherweise voneinander unabhängige Risikovarianten darstellen. Die funktionelle Bedeutung der beiden Polymorphismen rs951436 und rs951439 ist derzeit nicht bekannt. Da sich beide Marker in der 5'UTR des RGS4-Gens und somit in der vermuteten Promotorregion des Gens befinden, ist jedoch ein Einfluss dieser Polymorphismen auf die Regulierung der Genexpression vorstellbar. Eine Untersuchung des Einflusses von vier RGS4-Polymorphismen (rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319) und daraus gebildeter Haplotypen auf die Transkriptionsregulation in einer kaukasischen Stichprobe deutet darauf hin, dass die beiden häufig vorkommenden Haplotypen C-C-C-C und T-A-T-T einen vergleichbaren Einfluss auf die Promotoraktivität haben (Chowdari et al. 2008). Daher ist eine ähnliche funktionelle Rolle der unterschiedlichen Haplotypen bzw. Allele für die Transkriptionsregulation denkbar.

Die Hypothese der voneinander unabhängigen Risikoallele in den RGS4-Markern rs951436 und rs951439 wäre auch für die Ausprägung klinischer Symptome im Rahmen der Schizophrenie denkbar. Damit konsistent wäre der Befund, dass in einer chinesischen

Stichprobe eine Assoziation der homozygoten Genotypen (AA, CC) im Marker rs951436 mit einem erhöhten Schweregrad der klinischen Symptomatik bei schizophrenen Patienten (PANSS) gefunden wurde (So et al. 2008). Andererseits werden von anderen Autoren (Campbell et al. 2008, Lane et al. 2008) keine Zusammenhänge zwischen dem SNP rs951436 und schizophrenieassoziierten Symptomatik (PANSS) berichtet, während der Genotyp TT im Marker rs951439 in der Untersuchung von Lane et al. (2008) mit einem schlechteren sozialen Funktionsniveau bei chinesischen Schizophreniepatienten assoziiert war. In einer afrikanischen Stichprobe war der Genotyp TT des SNP rs951439 mit einer schlechteren Neuroleptika-Response assoziiert (Campbell et al. 2008). In einer chinesischen Stichprobe konnte hingegen kein Zusammenhang des Marker rs951439 mit der Neuroleptika-Response gefunden werden (Lane et al. 2008), in dieser Stichprobe war der Genotyp GG im SNP rs10917670 mit einer geringeren Verbesserung der Symptomatik nach Behandlung mit Antipsychotika assoziiert. Bislang wurde keine Assoziation des RGS4-SNP rs951436 und der Neuroleptika-Response gefunden (Kampman et al. 2006, Campbell et al. 2008, Lane et al. 2008). Ein Zusammenhang zwischen RGS4-Polymorphismen und dem Ansprechen auf Neuroleptika ist aufgrund des Einflusses von RGS4-Proteinen auf die Signaltransduktion bestimmter Neurotransmitter wie Dopamin oder Serotonin denkbar.

Neben dem Zusammenhang der RGS4-Polymorphismen mit Schizophrenie wurde in der vorliegenden Arbeit auch die Assoziation dieser Marker mit kognitiven Faktoren speziell dem deklarativen verbalen Gedächtnis untersucht. Es wurde eine signifikante Assoziation des C-Allels in SNP rs951436 mit einer schlechteren Leistung in einer Gedächtnisaufgabe (verzögerte Wiedergabe des WMS-R, $p = 0.021$) festgestellt (Tabelle 37, Seite 136). Da Patienten mit einer Schizophrenie in der vorliegenden Studie häufiger das C-Allel an diesem Locus (rs951436) haben, ist dieser Befund nicht überraschend, zumal bei Schizophreniepatienten Defizite im Bereich des verbalen Gedächtnisses zu den konsistentesten Befunden zählen (Cirillo & Seidman 2003). Der RGS4-Marker rs951439 zeigte in der vorliegenden Untersuchung keine Assoziation mit den Leistungen im Bereich verbales Gedächtnis. Bislang wurden zwei Studien veröffentlicht, in denen Zusammenhänge zwischen RGS4-Markern und Gedächtnis untersucht wurden (Stefanis et al. 2008, Prasad et al. 2009). In einer Stichprobe kaukasischer Rekruten der Luftwaffe fanden Stefanis et al. (2008) keinen Zusammenhang zwischen den Markern rs951436 und rs951439 des RGS4-Gens und verbalem sowie räumlichem Arbeitsgedächtnis (verbale und räumliche Version einer n-back Aufgabe, Gevins et al. 1996) oder Antisakkaden (Smyrnis et al. 2003). Zwar

untersuchten die Autoren nicht das deklarative verbale Gedächtnis wie in der vorliegenden Arbeit, jedoch sind die beiden Kognitionen verbales Gedächtnis und Arbeitsgedächtnis voneinander nicht unabhängig. Da Stefanis et al. (2008) Probanden, die in den einzelnen Aufgaben schlechte Ergebnisse erzielten (beispielsweise drei von fünf 2-back Aufgaben in der verbalen oder räumlichen Version des Tests nicht lösten), von der Analyse ausschlossen, könnte dieser negative Befund möglicherweise spezifisch für Personen mit gut ausgebildeten Fähigkeiten im Bereich Arbeitsgedächtnis sein. Damit wären die Ergebnisse von Stefanis et al. (2008) nicht auf Patienten mit einer Schizophrenie übertragbar, da diese Defizite im Bereich des Arbeitsgedächtnisses aufweisen (Green et al. 2004, Nuechterlein et al. 2004, Buchanan et al. 2005). In der Studie von Prasad et al. (2009) wurden unter anderem auch die Zusammenhänge zwischen dem räumlichen und verbalen Gedächtnis und RGS4-SNPs analysiert. Die Autoren fanden eine Assoziation zwischen dem Marker rs951439 und der Effizienz in einer Aufgabe des verbalen Gedächtnisses, ein Zusammenhang der nach Korrektur für multiples Testen jedoch nicht mehr signifikant war. Der Marker rs951436 war kein Bestandteil der Untersuchung (Prasad et al. 2009). Insgesamt deuten die Ergebnisse von Prasad et al. (2009) darauf hin, dass einzelne RGS4-Polymorphismen mit unterschiedlichen Aspekten von Kognition (Genauigkeit, Schnelligkeit, Effizienz) assoziiert zu sein scheinen.

So et al. (2008) fanden in einer Stichprobe chinesischer Schizophreniepatienten eine Assoziation zwischen dem Genotyp AA im RGS4-Marker rs951436 und einer schlechteren Leistung im Subtest „Information“ des WAIS. Da das deklarative verbale Gedächtnis auch für die Lösung von Aufgaben, wie sie im Subtest „Information“ des WAIS vorkommen, eine wichtige Rolle spielt, scheint dieser Befund im Gegensatz zum Ergebnis der vorliegenden Untersuchung zu stehen. Relativiert wird diese Annahme durch die Tatsache, dass die richtige Beantwortung der Fragen zum Allgemeinwissen, die im Untertest „Information“ enthalten sind, vor allem von bildungsspezifischen Aspekten abhängig ist.

In zwei Studien wurden Zusammenhänge zwischen RGS4-Polymorphismen und neuroanatomischen Veränderungen untersucht, die sowohl für den klinischen Phänotypen Schizophrenie als auch für kognitive Fähigkeiten eine Rolle spielen. Prasad et al. (2005) berichten bei Patienten mit einer Schizophrenie oder einer schizoaffektiven Störung eine Assoziation zwischen den Genotypen AA und AC im RGS4-Marker rs951436 und einem um ca. 25% reduzierten Volumen des rechten und linken DLPFC (Tabelle 38, Seite 137&138). Ein Befund, der für Patienten spezifisch war und bei gesunden Kontrollprobanden nicht

gefunden wurde (Prasad et al. 2005). Da Prasad et al. (2005) erstmals erkrankte, Neuroleptika-naive Patienten untersuchten, sind diese patientenspezifischen Befunde nicht auf die Chronizität der Erkrankung oder eine Neuroleptikabehandlung zurückzuführen. Unklar bleibt, ob und gegebenenfalls wie RGS4-Polymorphismen einen Einfluss auf zugrundeliegende Mechanismen der Volumenveränderungen im DLPFC haben, welche molekularen Pathways zu Alterationen im Volumen führen und inwieweit derartige strukturelle Veränderungen zur Pathogenese der Schizophrenie oder Leistungsunterschieden in kognitiven Bereichen beitragen. Weiterhin bleibt die Frage offen, ob die Befunde von Prasad et al. (2005) für das Volumen des DLPFC spezifisch sind, oder ob auch andere Gehirnareale, in denen RGS4 unterexprimiert ist, davon betroffen sind. Es stellt sich auch die Frage, ob die beobachteten Veränderungen im DLPFC für schizophrene Patienten spezifisch sind. Buckholtz et al. (2007) berichten von einer Assoziation zwischen dem A-Allel im SNP rs951436 und einer Reduktion der grauen Hirnsubstanz im rechten (nicht aber im linken) ventrolateralen Präfrontalkortex, dem Thalamus und dem rechten superioren temporalen Gyrus bei gesunden Personen. Bezüglich der weißen Hirnsubstanz wurde bei A-Allel-Trägern eine Reduktion im rechten ventralen Präfrontalkortex gefunden (Buckholtz et al. 2007). Die Studie von Buckholtz et al. (2007) liefert auch Hinweise darauf, dass das A-Allel des RGS4-SNP rs951436 mit funktionellen und strukturellen Aspekten des Gehirns gesunder Personen assoziiert sein könnte. Gesunde Studienteilnehmer mit dem A-Allel an diesem Locus zeigten eine veränderte neuronale Response bei einer Arbeitsgedächtnisaufgabe (n-back) sowie eine langsamere Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit. Dieser Befund scheint im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung zu stehen, in welcher das C-Allel am Locus rs951436 mit einer schlechteren Leistung im Bereich verbales Gedächtnis assoziiert war. Die Kognitionen Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit und verbales Gedächtnis sind zwar nicht unabhängig voneinander, stellen jedoch distinkte Fähigkeiten dar, denen unterschiedliche neurobiologische Substrate zugrunde liegen. Zudem beschränkt sich die von Buckholtz et al. (2007) beschriebene beeinträchtigte Konnektivität auf das Netzwerk, welches speziell in die Funktionen des Arbeitsgedächtnisses involviert zu sein scheinen. Bezüglich anderer Areale wurde für A-Allel-Träger am Locus rs951436 sogar eine gesteigerte Konnektivität berichtet (Buckholtz et al. 2007). Unbekannt ist derzeit, ob diese strukturellen Veränderungen bei gesunden Personen selbst eine schädigende Wirkung haben oder kompensatorischen Charakter aufweisen. Unklar ist derzeit auch, welche Rolle die in der Studie von Buckholtz et al. (2007) berichteten Zusammenhänge für die Ausprägung anderer kognitiver Faktoren wie beispielsweise des deklarativen Gedächtnisses oder klinischer

Symptome einer Erkrankung wie Schizophrenie spielen. Zudem erschwert die Tatsache, dass in den Studien von Prasad et al. (2005) und Buckholtz et al. (2007) Volumenreduktionen in umschriebenen Gehirnnarealen beschrieben wurden, die nicht zu den primär mit deklarativem Gedächtnis assoziierten Arealen gehören, die Vergleichbarkeit der Ergebnisse dieser Studien mit denen der vorliegenden Untersuchung. Die Komplexität der Verknüpfungen zwischen den einzelnen den verbalen Gedächtnisprozessen zugrunde liegenden Gehirnnarealen (mehrere Areale des medialen Temporallappens und der Frontallappen) erschwert eine weitergehende Diskussion der Befunde ebenso wie die Annahme, dass der Zusammenhang zwischen strukturellen Veränderungen im Gehirn und funktionellen sowie neurokognitiven Besonderheiten nicht geradlinig ist.

Die beiden Marker rs2661319 und rs2842030 sind - mit Ausnahme der Isoform 3 - im ersten Intron des RGS4-Gens lokalisiert. Die Funktion dieser beiden Polymorphismen ist derzeit unbekannt. Sowohl in der vorliegenden Untersuchung als auch in anderen Stichproben (Guo et al. 2006, Campbell et al. 2008) befinden sich die beiden Marker rs2661319 und rs2842030 im Kopplungsungleichgewicht mit den SNPs rs951436 und rs951439. In Studien in denen der Marker rs2842030 kein Bestandteil der Untersuchung war, war der SNP rs2661319 mit den beiden RGS4-Polymorphismen rs951436 und rs951439 gekoppelt (Chowdari et al. 2002, 2008, Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Zhang et al. 2005, Sobell et al. 2005, Li & He 2006, Talkowski et al. 2006, Liu et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, So et al. 2008, Prasad et al. 2009). In der vorliegenden Studie war der RGS4-Polymorphismus rs2661319 nicht mit Schizophrenie assoziiert (Tabelle 37, Seite 136). Ein Befund, der mit den Ergebnissen der Mehrzahl der bislang veröffentlichten Assoziationsstudien (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh-Sample, Neu Delhi-Sample), Morris et al. 2004, Zhang et al. 2005, Sobell et al. 2005, Liu et al. 2006, Guo et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, Rizig et al. 2006 & Puri et al. 2007, So et al. 2008, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009, Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75), den drei Metaanalysen (Guo et al. 2006, Li & He 2006, Talkowski et al. 2006, Tabelle 2c, Seite 76) und einer genomweiten Assoziationsstudien mit gepoolter Genotypisierung (Kirov et al. 2008, Tabelle 2c Seite 76) konsistent ist. Andere Autoren berichten für den Marker rs2661319 Assoziationen mit Schizophrenie, wobei die mit der Erkrankung assoziierten Allele variieren: Chowdari et al. (NIMH-Stichprobe, 2002) und Williams et al. (2004) fanden einen Zusammenhang des T-Allels an diesem Locus und der Schizophrenie, während Chen et al. (2004) und Cordeiro et al. (2005) eine Assoziation der Erkrankung mit dem C-Allel berichten (Tabelle 38, Seite

137&138). Abgesehen von der Möglichkeit, dass es sich bei diesen differierenden Befunden um falsch positive Ergebnisse handeln könnte, wäre auch ein Zusammenhang zwischen beiden Allelen und einer Risikosteigerung an einer Schizophrenie zu erkranken denkbar. Die Heterogenität auf Allelebene wäre eine mögliche Erklärung für die abweichenden Ergebnisse. Eine Variabilität der Allelassoziation mit dem Krankheitsphänotypen ist weder für die Schizophrenie noch für das RGS4-Gen spezifisch. Beispielsweise werden für das COMT-Gen (Shifman et al. 2002, Glatt et al. 2003) und das Dysbindin-Gen (Straub et al. 2002, Schwab et al. 2003) unterschiedliche Allele als mit der Schizophrenie assoziiert berichtet. Möglicherweise sind die unterschiedlichen RGS4-Loci eher mit einzelnen Symptomen, die im Rahmen einer Schizophrenie vorliegen können, oder dem Schweregrad dieser Symptome assoziiert. Hinweise darauf liefern für den Marker rs2661319 die Ergebnisse einer Studie (Campbell et al. 2008) in der ein Zusammenhang zwischen dem Genotypen TT am RGS4-Locus rs2661319 und einem höheren Schweregrad schizophrenieassoziiierter Symptomatik (PANSS) gefunden wurde. Derartige Zusammenhänge konnten in anderen Untersuchungen (Lane et al. 2008, So et al. 2008, Réthelyi et al. 2010) nicht eruiert werden. Untersucht wurde auch ein möglicher Zusammenhang zwischen dem SNP rs2661319 und der Neuroleptika-Response. Lane et al. (2008) berichten eine Assoziation zwischen dem Genotypen CC am Locus rs2661319 und einer geringeren Verbesserung sowohl der klinischen Symptomatik (PANSS) als auch der sozialen Funktionsfähigkeit nach Einnahme eines Atypikum (Risperidon), während andere Autoren (Campbell et al. 2008) keinen Zusammenhang des RGS4-Polymorphismus mit dem Ansprechen auf Neuroleptika fanden.

In der vorliegenden Studie war der SNP rs2842030 des RGS4-Gens nicht mit Schizophrenie assoziiert. Bislang wurde der Marker rs2842030 lediglich in drei veröffentlichten Studien auf einen möglichen Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht (Fallin et al. 2005, Guo et al. 2006, Sanders et al. 2008, Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75; Tabelle 2c, Seite 76). In einer Untersuchung wurde eine signifikante Assoziation des SNP rs2842030 und Schizophrenie gefunden, wobei die Autoren (Fallin et al. 2005) das mit der Erkrankung assoziierte Allel nicht angeben. Möglicherweise ist dieser Locus auch nicht mit dem klinischen Phänotypen Schizophrenie als solches assoziiert sondern mit einzelnen Symptomen der Erkrankung oder deren Ausprägung. Eine Studie (Campbell et al. 2008) liefert Hinweise auf eine Assoziation des Genotypen GG am Locus rs2842030 des RGS4-Gens und einem höheren Schweregrad an klinischen Symptomen (PANSS). In der gleichen Studie wurde - begrenzt auf die Gruppe der afrikanischen Patienten - eine Assoziation zwischen einer

schlechteren Neuroleptika-Response und dem Genotypen GG im Marker rs2842030 gefunden (Campbell et al. 2008).

Obwohl die beiden RGS4-Marker rs2661319 und rs2842030 in der vorliegenden Studie nicht mit dem Krankheitsphänotypen Schizophrenie assoziiert waren, zeigten beide Polymorphismen einen Zusammenhang mit den Leistungen in unterschiedlichen Gedächtnistests. Das T-Allel im SNP rs2661319 war tendenziell mit einer schlechteren Leistung in zwei Gedächtnisindizes assoziiert (verzögerte Wiedergabe des WMS-R: $p = 0.057$, Verlust nach zeitlicher Verzögerung DG5-DG7 des VLMT: $p = 0.073$, Tabelle 37, Seite 136). Damit konsistent scheinen die Befunde einer Untersuchung von Prasad et al. (2005), die bei Schizophreniepatienten eine Assoziation zwischen den Genotypen TT und TC im Locus rs2661319 mit einer Volumenreduktion im rechten und linken dorsolateralen Präfrontalkortex fanden. Da Prasad et al. (2005) erstmals erkrankte, Neuroleptika-naive Patienten mit einer Schizophrenie untersuchten, sind die Ergebnisse nicht auf die Chronizität der Erkrankung oder eine Neuroleptikabehandlung zurückzuführen. Der Befund war für Patienten spezifisch und zeigte sich nicht bei gesunden Kontrollprobanden (Prasad et al. 2005). Daher bleibt unklar, ob dieser Befund für Patienten mit einer Schizophrenie oder einer schizoauffektiven Störung spezifisch ist, oder auch für andere Personengruppen Gültigkeit hat. Die Studie von Stefanis et al. (2008) liefert Hinweise darauf, dass das T-Allel im Marker rs2661319 auch bei Personen, die nicht an einer Schizophrenie leiden, mit einer schlechteren Leistung in einem Bereich assoziiert ist, der als schizophrenieassoziiertes intermediäres Phänotyp angesehen werden kann. In einer Gruppe gesunder Personen war das T-Allel im SNP rs2661319 mit einer erhöhten Fehlerzahl in einer Antisakkaden-Aufgabe assoziiert (Stefanis et al. 2008).

Das T-Allel am Locus rs2842030 war in der vorliegenden Arbeit mit einer schlechteren Leistung in zwei Indizes des WMS-R assoziiert (unmittelbare Wiedergabe $p = 0.030$, verzögerte Wiedergabe $p = 0.068$, Tabelle 37, Seite 136). Der SNP rs2842030 des RGS4-Gens wurde bislang lediglich in einer Studie (So et al. 2008) auf mögliche Assoziationen mit kognitiven Faktoren untersucht, wobei kein Zusammenhang mit den Leistungen in den durchgeführten Tests festgestellt wurde.

Der Marker rs10759 ist in der 3'UTR des RGS4-Gens lokalisiert, seine Funktion ist bislang unbekannt. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung deuten auf einen Zusammenhang

des SNP rs10759 und der Schizophrenie hin. Die Genotypen AA und CC waren in der Gruppe der Schizophreniepatienten tendenziell seltener vertreten ($p = 0.089$, Tabelle 37, Seite 136). In den drei bislang veröffentlichten Assoziationsstudien, in denen ein Zusammenhang zwischen dem RGS4-Marker rs10759 und Schizophrenie untersucht wurde (Wood et al. 2007, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009, Tabelle 2b, Seite 75) konnte keine Assoziation mit der Erkrankung gefunden werden. Auch die GWAs mit individueller (Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008, Tabelle 2c, Seite 76) und gepoolter Genotypisierung (Shifman et al. 2008, Kirov et al. 2008, Tabelle 2c, Seite 76) erbrachten keine Assoziation zwischen dem Marker rs10759 und Schizophrenie. Bezüglich des Zusammenhangs zwischen dem kognitiven Faktor verbales Gedächtnis und dem RGS4-Locus rs10759 konnten in der vorliegenden Studie folgende Ergebnisse eruiert werden: Das A-Allel des SNP rs10759 war mit einer tendenziell schlechteren Leistung im Index unmittelbare Wiedergabe des WMS-R ($p = 0.055$) sowie einer schlechteren Leistung im Index Gesamtlernleistung des VLMT ($p = 0.009$) assoziiert. Personen mit dem Genotyp AA erzielten im Index Gesamtlernleistung des VLMT signifikant schlechtere Ergebnisse ($p = 0.047$, Tabelle 37, Seite 136). Bislang wurden keine Studien veröffentlicht, die einen Zusammenhang zwischen dem Marker rs10759 und kognitiven Faktoren oder neuroanatomischen Besonderheiten explorieren.

Der SNP rs2063142 befindet sich in der 3'Intergenregion des RGS4-Gens, wobei seine Funktion derzeit unbekannt ist. In der vorliegenden Studie war dieser RGS4-Polymorphismus mit Schizophrenie assoziiert. Die Genotypen CC und TT kamen bei schizophrenen Patienten an diesem Locus signifikant seltener vor als bei gesunden Kontrollprobanden ($p = 0.002$, Tabelle 37, Seite 136). Bislang wurde der RGS4-Marker rs2063142 lediglich in einer Assoziationsstudie als Teil eines Haplotypen auf einen möglichen Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht (Vilella et al. 2007, Tabelle 2b, Seite 75). Weder in der Studie von Vilella et al. (2007) noch in den GWAs (Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008, Shifman et al. 2008, Kirov et al. 2008, Tabelle 2c, Seite 76) konnte eine Assoziation des RGS4-SNP rs2063142 und der Erkrankung gefunden werden. In der vorliegenden Studie war der Polymorphismus rs2063142 nicht nur mit Schizophrenie assoziiert, sondern zeigte auch einen tendenziellen Zusammenhang mit der Leistung in einem Index des verbalen Gedächtnisses: Personen mit dem C-Allel an diesem Locus zeigten im Index unmittelbare Wiedergabe des WMS-R eine tendenziell schlechtere Leistung ($p = 0.090$, Tabelle 37, Seite 136). Dieses Ergebnis hat explorierenden Charakter und wird - wie alle dargestellten Befunde - weitere Untersuchungen benötigen, bevor genauere Angaben über Zusammenhänge

zwischen RGS4-Polymorphismen und Schizophrenie bzw. assoziierte kognitive Faktoren gemacht werden können.

Die sechs untersuchten RGS4-Marker lagen in der vorliegenden Studie sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollprobanden- und Gesamtstichprobe auf zwei LD-Blöcken. Die Marker rs951436, rs951439, rs2661319 und rs2842030 waren im ersten Block lokalisiert, die beiden SNPs rs10759 und rs2063142 im zweiten. Andere Autoren (Wood et al. 2007, Campbell et al. 2008, Chowdari et al. 2008) berichten ebenfalls zwei LD-Blöcke für das RGS4-Gen, wobei die Grenze zwischen den zwei Blöcken und daher auch die Lokalisation der SNPs in den LD-Blöcken analog zu denen der vorliegenden Untersuchung waren. Der Haplotyp rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz A-T-T-G kam in der vorliegenden Stichprobe bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden signifikant seltener vor ($p = 0.0371$, Tabelle 37, Seite 136). Die restlichen Haplotypen zeigten keine Assoziation mit der Erkrankung. Bezüglich der mit Schizophrenie assoziierten Haplotypen finden sich in der Literatur differierende Angaben. Einige Autoren berichten eine Assoziation des Haplotypen rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz C-C-C-x (bzw. rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz C-C-C-C) bzw. Teile dieses Haplotypen und Schizophrenie (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh-Sample), Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, So et al. 2008, Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75). Während andere Autoren einen Zusammenhang zwischen dem Haplotypen (oder Teilen davon) rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz A-T-T-x (bzw. rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz T-A-T-T) und Schizophrenie fanden (Chowdari et al. 2002 (NIMH-Sample, Neu Delhi-Sample), Williams et al. 2004, Zhang et al. 2005 (kaukasisches Sample), Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75). In der Metaanalyse von Talkowski et al. (2006) waren beiden häufig vorkommenden Haplotypen rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Sequenz C-C-C-C und T-A-T-T, die gemeinsam mehr als 80% aller Haplotypen einer Population ausmachen, mit der Erkrankung assoziiert (Tabelle 2c, Seite 76). Für diese scheinbar inkonsistente Befundlage gibt es mehrere mögliche Erklärungen. Die einfachste Begründung wäre, dass der Suszeptibilitätslocus bzw. -loci weiterhin unentdeckt bleiben, jedoch in diesen zwei Haplotypen häufiger oder ausschließlicher vorkommen. Auch das Vorliegen einer einzelnen, seltenen Suszeptibilitätsvariante, die sich im Hintergrund der beiden häufigen und mit der Erkrankung assoziierter Haplotypen verbirgt, wäre ein denkbare Szenario. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit wäre, dass die zwei Haplotypen selbst einen Einfluss auf die

Risikoerhöhung an einer Schizophrenie zu erkranken haben und somit zwei möglicherweise unabhängige Risikovarianten darstellen. Auch unterschiedliche Einflüsse der zwei mit der Erkrankung assoziierten Haplotypen auf epistatische Effekte sind denkbar, wobei eine risikosteigernde Wirkung möglicherweise das Resultat von Interaktionen der zwei Haplotypen mit unterschiedlichen Suszeptibilitätsgenen sein könnte. Ebenso sind differierende Einflüsse der zwei häufigen Haplotypen auf die Interaktion mit Umweltfaktoren denkbar, die jedoch allesamt zu phänotypischen Erscheinungsbildern führen, die unter der klinischen Diagnose Schizophrenie subsumiert werden.

Möglicherweise weisen die beiden mit Schizophrenie assoziierten Haplotypen Zusammenhänge mit einzelnen Aspekten des Phänotyps Schizophrenie auf. In einer Studie (Bakker et al. 2007) wird von einem Zusammenhang zwischen dem Haplotypen rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz C-x-x-C und Nichtdefizit-Schizophrenie berichtet (Tabelle 3, Seite 85), wobei die Assoziation nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant war. Andere Autoren konnten keine Zusammenhänge zwischen untersuchten Haplotypen und dem Schweregrad schizophrenieassoziierter Symptomatik (Campbell et al. 2008, Réthelyi et al. 2010) oder der Neuroleptika-Response (Campbell et al. 2008) finden (Tabelle 3, Seite 85).

Die vorliegende Studie liefert Hinweise auf eine Assoziation zwischen dem Haplotypen rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz C-C-C-T und einer schlechteren Leistung in einer Gedächtnisaufgabe (Index verzögerte Wiedergabe des WMS-R; $p\text{-sim} = 0.04$, Tabelle 37, Seite 136). Wie bereits dargestellt kam in dieser Stichprobe der komplementäre Haplotyp mit der Sequenz A-T-T-G bei Patienten mit einer Schizophrenie signifikant seltener vor als bei gesunden Kontrollprobanden (Tabelle 37, Seite 136) und war assoziiert mit einer signifikant besseren Leistung bezüglich des Faktors verbales Gedächtnis ($p\text{-sim} = 0.05$). Für den Haplotypen rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz A-T-T wird in einer Studie (So et al. 2008) eine Assoziation mit einer schlechteren Leistung im Untertest „Information“ des WAIS berichtet (Tabelle 38, Seite 137&138). Während eine andere Untersuchung (Stefanis et al. 2008) für den gleichen Haplotypen mit der Allelsequenz C-C-C eine Assoziation mit einer schlechteren Leistung in einer räumlichen Arbeitsgedächtnisaufgabe beschreibt (Tabelle 38, Seite 137&138). Anhand dieser Befunde bleibt weiterhin unklar, ob und gegebenenfalls welchen Einfluss die RGS4-Haplotypen auf einzelne kognitive Bereiche haben, zumal die Untersuchung eines derartigen Zusammenhangs

sich immer auch mit dem Problem der Komplexität konfrontiert sieht. Sowohl die genetischen Varianten, die einen Einfluss auf kognitive Faktoren haben, als auch deren epistatischen Effekte und ihre Interaktionen mit umweltbedingten Einflüssen unterliegen einer komplexen Regulation, die bislang unbekannt ist.

Aufgrund der bislang durchgeführten Studien inklusive der hier vorliegenden Untersuchung ist die Annahme berechtigt, dass ein Zusammenhang zwischen dem RGS4-Gen und Schizophrenie sowie kognitiven Faktoren existiert. Die Resultate der einzelnen Studien variieren jedoch im Hinblick auf die mit der Erkrankung und kognitiven Faktoren assoziierten SNPs, Allel und Haplotypen. Für differierende Ergebnisse können unter anderem auch Unterschiede in der Methodik der Untersuchungen verantwortlich sein.

6.2 Diskussion der Methoden

Ethnische Abstammung

Die ethnische Abstammung einer Untersuchungsstichprobe kann für differierende Ergebnisse verschiedener Studien mitverantwortlich sein, da die Allel- und Genotypfrequenzen in unterschiedlichen Populationen stark variieren können und somit die Resultate durch populationsbezogene, genetische Faktoren möglicherweise beeinflusst werden könnten. Die Populationen, auf die sich die Ergebnisse der Studien zur Assoziation des RGS4-Gens und Schizophrenie beziehen, unterscheiden sich in Bezug auf ihre Ethnizität (Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75; Tabelle 2c, Seite 76), während in der vorliegenden Analyse nur kaukasische Personen untersucht wurden.

In der ersten Assoziationsstudie zum Zusammenhang zwischen Schizophrenie und RGS4-Polymorphismen untersuchten Chowdari et al. (2002) drei unabhängige Stichproben, die sich bezüglich der Ethnizität der Teilnehmer unterschieden: In Pittsburgh wurden 93 Fall-Eltern-Trios kaukasischer Abstammung untersucht (Chowdari et al. 2002). Das Patientenkollektiv der NIMH Collaborative Genetics Initiative bestand aus 39 Fall-Eltern-Trios und 30 erkrankten Geschwisterpaaren, wobei 25 Patienten kaukasischer, 10 afroamerikanischer und 4 Patienten anderer Abstammung waren. Das indische Neu Delhi Kollektiv umfasste 269 Fall-Eltern-Trios sowie 72 erkrankte Geschwisterpaare (Chowdari et al. 2002). In den meisten nachfolgenden Assoziationsstudien wurden Patienten und Kontrollprobanden kaukasischer

Ethnizität analysiert. Williams et al. (2004) untersuchten eine kaukasische Stichprobe aus England und Irland. Auch die Stichprobe von Morris et al. (2004) setzte sich aus Patienten und Kontrollen zusammen, die allesamt aus der Republik Irland stammten. Chen et al. (2004) untersuchten Patienten und Angehörige die aus Nordirland und der Republik Irland stammten und Teilnehmer an der Irish Study of High Density Schizophrenia Families waren. Zhang et al. (2005) analysierten neben einer Stichprobe Han-Chinesen auch eine schottische Population in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie. Die Analysen von Rizig et al. (2006) & Puri et al. (2007) bezogen sich auf die gleiche Stichprobe, wobei die Teilnehmer aus England, Irland, Welsh oder Schottland stammten. Sobell et al. (2005) sowie Wood et al. (2007) untersuchten kaukasische Patienten und Probanden aus den USA, während sich die Stichprobe von Vilella et al. (2007) aus Spaniern und die von Betcheva et al. (2009) aus bulgarischen Staatsbürgern zusammensetzte.

Während für sieben kaukasische Stichproben (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh- & NIMH-Stichprobe (begrenzt auf die kaukasische Gruppe)), Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Zhang et al. 2005 (schottisches Sample), vorliegende Studie) Assoziationen der untersuchten Marker des RGS4-Gens mit der Erkrankung berichtet wurden, fanden andere Assoziationsstudien keinen derartigen Zusammenhang, obwohl die untersuchten Stichproben ebenfalls kaukasischer Herkunft waren (Sobell et al. 2005, Rizig et al. 2006 & Puri et al. 2007, Vilella et al. 2007). In anderen kaukasischen Stichproben war die Assoziation nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant (Wood et al. 2007, Sanders et al. 2008). Auch in den beiden kaukasische Stichproben genomweiter Assoziationsstudien (Lencz et al. 2007, Kirov et al. 2008) wurde kein Zusammenhang zwischen der Erkrankung und den RGS4-Markern gefunden.

Die positiven Assoziationsbefunde in den sieben kaukasischen Stichproben (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh- & NIMH-Stichprobe (kaukasisches Sample)), Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Zhang et al. 2005 (schottisches Sample), vorliegende Studie) sind jedoch nicht eindeutig. Die mit der Schizophrenie assoziierten RGS4-SNPs variieren zwischen den Analysen ebenso wie die mit der Erkrankung assoziierten Allele und Haplotypen (Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75). Für den RGS4-Marker rs951436 werden für unterschiedliche kaukasische Stichproben sowohl Assoziationen der Erkrankung mit dem C-Allel als auch solche mit dem A-Allel berichtet (Tabelle 38, Seite 137). Ebenso waren sowohl die T-Allele als auch die C-Allele der beiden SNPs rs951439 und rs2661319 in

unterschiedlichen kaukasischen Samples mit der Erkrankung assoziiert (Tabelle 38, Seite 137). Unterschiedliche Allel- und Genotypfrequenzen zwischen den untersuchten Stichproben wären eine mögliche Erklärung für diese Befunde.

Um die Allel- und Genotypfrequenz einer Stichprobe mit Durchschnittswerten aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen zu vergleichen, können die Angaben des International HapMap Projects (<http://www.hapmap.org>) herangezogen werden. Das International HapMap Project ist eine Zusammenarbeit von akademischen und nichtkommerziellen Forschungsgruppen sowie Unternehmen aus den USA, Großbritannien, Kanada, Japan, China und Nigeria mit dem Ziel, eine öffentlich zugängliche Informationsquelle zu schaffen, die Forschern zur Verfügung steht. Das HapMap 3 Sample umfasst die Daten von 1301 Personen aus elf Populationen, darunter Einwohner aus Utah, USA mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (CEU, n = 120), Han Chinesen aus Beijing, China (HCB, n = 90), Japaner aus Tokyo (JPT, n = 88) und Yoruba aus Ibadan, Nigeria (YRI, n = 120). Die Allel- und Genotypfrequenzen der sechs untersuchten RGS4-Marker in den einzelnen Stichproben (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>) werden in Tabelle 39, Seite 153&154 wiedergegeben.

Die Verteilung der Allele und Genotypen der RGS4-Marker rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030, rs10759, rs2063142 weichen in der vorliegenden Stichprobe nur geringfügig von der Verteilung in der kaukasischen Stichprobe der Einwohner aus Utah (CEU) ab (Tabelle 39, Seite 153&154). Da die Verteilung der jeweiligen Allele und Genotypen innerhalb kaukasischer Gruppen vergleichbar ist, deuten die in der Literatur berichteten Assoziationen der Schizophrenie mit differierenden SNPs und Allelen auf eine Locus- und Allelheterogenität der Schizophrenie hin.

Tabelle 39: Allel- und Genotypfrequenzen der RGS4-Marker innerhalb der vorliegenden Studie und unterschiedlicher Populationsstichproben

rs951436	A	C	AA	AC	CC
vorliegende Studie (n = 1819)	0.527	0.473	0.280	0.494	0.226
HapMap CEU: Einwohner aus Utah (USA) mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 120)	0.575	0.425	0.317	0.517	0.167
HapMap HCB: Han Chinesen aus Beijing (China) (n = 90)	0.411	0.589	0.133	0.556	0.311
HapMap JPT: Japaner aus Tokyo (n = 88)	0.545	0.455	0.273	0.545	0.182
HapMap YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria) (n = 120)	0.800	0.200	0.650	0.300	0.050
rs951439	C	T	CC	CT	TT
vorliegende Studie (n = 1818)	0.564	0.436	0.323	0.481	0.196
HapMap CEU: Einwohner aus Utah (USA) mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 120)	0.517	0.483	0.250	0.533	0.217
HapMap HCB: Han Chinesen aus Beijing (China) (n = 90)	0.633	0.367	0.356	0.556	0.089
HapMap JPT: Japaner aus Tokyo (n = 88)	0.614	0.386	0.364	0.500	0.136
HapMap YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria) (n = 120)	0.558	0.442	0.250	0.617	0.133
rs2661319	C	T	CC	CT	TT
vorliegende Studie (n = 1757)	0.508	0.492	0.273	0.471	0.256
HapMap CEU: Einwohner aus Utah (USA) mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 116)	0.440	0.560	0.172	0.534	0.293
HapMap HCB: Han Chinesen aus Beijing (China) (n = 90)	0.578	0.422	0.333	0.489	0.178
HapMap JPT: Japaner aus Tokyo (n = 88)	0.398	0.602	0.136	0.523	0.341
HapMap YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria) (n = 116)	0.207	0.793	0.052	0.310	0.638

Tabelle 39: Allel- und Genotypfrequenzen der RGS4-Marker innerhalb der vorliegenden Studie und unterschiedlicher Populationsstichproben

rs2842030	G	T	GG	GT	TT
vorliegende Studie (n = 1724)	0.453	0.547	0.226	0.454	0.320
HapMap CEU: Einwohner aus Utah (USA) mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 120)	0.492	0.508	0.200	0.583	0.217
HapMap HCB: Han Chinesen aus Beijing (China) (n = 90)	0.400	0.600	0.156	0.489	0.356
HapMap JPT: Japaner aus Tokyo (n = 88)	0.455	0.545	0.182	0.545	0.273
HapMap YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria) (n = 120)	0.708	0.292	0.567	0.283	0.150
rs10759	A	C	AA	AC	CC
vorliegende Studie (n = 1795)	0.302	0.698	0.100	0.403	0.497
HapMap CEU: Einwohner aus Utah (USA) mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 120)	0.283	0.717	0.067	0.433	0.500
HapMap HCB: Han Chinesen aus Beijing (China) (n = 90)	0.556	0.444	0.356	0.400	0.244
HapMap JPT: Japaner aus Tokyo (n = 88)	0.364	0.636	0.159	0.409	0.432
HapMap YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria) (n = 120)	0.083	0.917	0.017	0.133	0.850
rs2063142	C	T	CC	CT	TT
vorliegende Studie (n = 1814)	0.259	0.741	0.072	0.374	0.554
HapMap CEU: Einwohner aus Utah (USA) mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 120)	0.250	0.750	0.050	0.400	0.550
HapMap HCB: Han Chinesen aus Beijing (China) (n = 90)	0.478	0.522	0.222	0.511	0.267
HapMap JPT: Japaner aus Tokyo (n = 88)	0.352	0.648	0.114	0.477	0.409
HapMap YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria) (n = 120)	0.067	0.933	0	0.133	0.867

Möglicherweise lassen sich Zusammenhänge zwischen der Erkrankung und RGS4-Markern in Stichproben, die genetisch homogener sind als die Gruppe der Kaukasier besser eruieren. Hierfür sprechen die Ergebnisse von Fallin et al. (2005), die in ihr Sample ausschließlich Patienten eingeschlossen, deren Eltern und Großeltern aschkenasische Juden waren, und somit die genetische Heterogenität ihrer Stichprobe reduzierten. Fallin et al. (2005) berichten für ihr ethnisch homogenes Sample signifikante Assoziationen dreier RGS4-Polymorphismen und der Schizophrenie. Andererseits untersuchten Shifman et al. (2008) in der ersten Stichprobe ihrer GWA nur aschkenasische Juden ohne einen Zusammenhang zwischen den RGS4-Polymorphismen und Schizophrenie zu finden.

Da die Populationsstratifikation zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen kann, sind Resultate von Studien mit Teilnehmern unterschiedlicher ethnischer Abstammung kritisch zu bewerten. In lediglich zwei ethnisch diversifizierten Stichproben wurden bislang Assoziationen zwischen RGS4-Markern und der Erkrankung gefunden. Chowdari et al. (2002) berichten für ihr NIMH-Sample Assoziationen dreier SNPs (rs10917670, rs951436, rs2661319) mit Schizophrenie bzw. schizoaffectiver Störung. Während zwei RGS4-SNPs (rs951436, rs951439) in der Metaanalyse von Talkowski et al. (2006) in der ethnisch gemischten Gesamtstichprobe mit Schizophrenie bzw. schizoaffectiver Störung assoziiert waren. Talkowski et al. (2006) analysierten in ihrer Metaanalyse ein Sample bestehend aus Personen kaukasischer (z.B. Samples von Morris et al. 2004, Williams et al. 2004, Chen et al. 2004, Sobell et al. 2005, etc.), brasilianischer (Sample von Cordeiro et al. 2005), chinesischer (Sample von Collier, Li in Talkowski et al. 2006) und indischer Herkunft (Neu Delhi Sample von Chowdari et al. 2002).

Andere Assoziationsstudien (Cordeiro et al. 2005), Metaanalysen (Guo et al. 2006, Li & He 2006) und GWAs (Mah et al. 2006, O'Donovan et al. 2008, Sullivan et al. 2008) fanden in ethnisch gemischten Stichproben keine Assoziation zwischen den untersuchten RGS4-Markern und Schizophrenie bzw. schizoaffectiver Störung, was unter anderem möglicherweise auf die ethnische Diversität der Stichproben zurückgeführt werden kann. Guo et al. (2006) untersuchten in ihrer Metaanalyse eine ethnisch gemischte Stichprobe bestehend aus Kaukasiern unterschiedlicher Herkunft: England (Samples von Williams et al. 2004, Rizig et al. 2006), Irland (Samples von Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Rizig et al. 2006), Schottland (Samples von Zhang et al. 2005, Rizig et al. 2006), USA (Sample von Sobell et al. 2005), sowie Patienten und Kontrollprobanden brasilianischer (Sample von Cordeiro et al.

2004) und chinesischer (Sample von Guo et al. 2006) Ethnizität. Die Analysen erbrachten weder für die Gesamtstichprobe noch für die auf Kaukasier und Brasilianer begrenzte Stichprobe signifikante Assoziationen der untersuchten RGS4-SNPs und Schizophrenie bzw. schizoaffectiver Störung (Guo et al. 2006). Auch in die Metaanalyse von Li & He (2006) wurden Stichproben unterschiedlicher Ethnizität einbezogen: Kaukasier aus England (Sample von Williams et al. 2004), Irland (Samples von Morris et al. 2004, Williams et al. 2004) und den USA (Pittsburgh Sample von Chowdari et al. 2002), sowie Personen brasilianischer (Sample von Cordeiro et al. 2004) und indischer (Neu Delhi Sample von Chowdari et al. 2002) Ethnizität. Die Metaanalyse von Li & He (2006) erbrachte keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Schizophrenie und RGS4-Markern.

Obwohl einige Studien veröffentlicht wurden in denen der Zusammenhang zwischen dem RGS4-Gen und Schizophrenie in asiatischen Stichproben untersucht wurde (Zhang et al. 2005, Liu et al. 2006, Guo et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, So et al. 2008), liegen für diese ethnische Gruppe bislang keine positiven Assoziationsbefunde vor. Zhang et al. (2005) untersuchten eine Stichprobe Han-Chinesen aus der gleichen geographischen Region sowie ein Sample aus Schottland und fanden bei den beiden Stichproben ähnliche Allelfrequenzen und Kopplungsgleichgewichte zwischen den untersuchten RGS4-SNPs. Im Gegensatz zur schottischen Stichprobe waren bei den Han-Chinesen jedoch keine signifikanten Assoziationen zwischen den RGS4-Polymorphismen und der Schizophrenie feststellbar (Zhang et al. 2005). Liu et al. (2006) bezogen Familien taiwanesischer Herkunft (Ethnizität überwiegend Han-Chinesen) in ihre Studie ein, während Guo et al. (2006) und So et al. (2008) Han-Chinesen untersuchten. Wie aus Tabelle 39 (Seite 153&154) erkennbar, variieren die Allel- und Genotypfrequenzen der hier untersuchten RGS4-Marker zwischen asiatischen und kaukasischen Populationen, was zu abweichenden Ergebnissen in ethnisch differierenden Stichproben führen kann. Möglicherweise sind in asiatischen Populationen RGS4-Polymorphismen auch weniger stark oder nicht in die Risikosteigerung an einer Schizophrenie zu erkranken involviert.

Die LD-Blockstruktur des RGS4-Gens scheint in Stichproben unterschiedlicher Ethnizität ähnlich zu sein. Sowohl in der vorliegenden Studie als auch in drei weiteren Samples (Wood et al. 2007, Campbell et al. 2008, Chowdari et al. 2008) wurden zwei LD-Blöcke identifiziert. Die Marker rs10917670, rs951436, rs951439, rs2661319, rs2842030 sind sowohl in kaukasischen Stichproben (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh-Sample), Williams et al. 2004,

Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Zhang et al. 2005 (kaukasisches Sample), Sobell et al. 2005, Sanders et al. 2008) als auch in Stichproben gemischter Ethnizität (Chowdari et al. 2002 (NIMH-Sample), Cordeiro et al. 2005, Talkowski et al. 2006, Campbell et al. 2008), Samples von Personen indischen Ursprungs (Chowdari et al. 2002 (Neu Delhi-Sample)), chinesischer Abstammung (Zhang et al. 2005 (chinesisches Sample), Guo et al. 2006, So et al. 2008) und japanischer Herkunft (Ishiguro et al. 2007) auf einem LD-Block lokalisiert. In allen ethnischen Gruppen kommen die beiden Haplotypen rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Sequenz C-C-C-C und T-A-T-T am häufigsten vor (Talkowski et al. 2006, Ishiguro et al. 2007).

Die mit Schizophrenie assoziierten Haplotypen variieren auch zwischen kaukasischen Stichproben. Der Haplotyp rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz A-T-T-G kam in der vorliegenden Stichprobe bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden signifikant seltener vor. Andere Autoren (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh-Sample), Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, So et al. 2008, Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75) berichten eine Assoziation des Haplotypen rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz C-C-C-x in kaukasischen Samples. Während in anderen Studien (Chowdari et al. 2002 (NIMH-Sample), Williams et al. 2004, Zhang et al. 2005 (kaukasisches Sample), Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75) ein Zusammenhang zwischen dem Haplotypen rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030 mit der Allelsequenz A-T-T-x und Schizophrenie gefunden wurde. Diese Befundlage deutet darauf hin, dass innerhalb der kaukasischen Personengruppe unterschiedliche Haplotypen mit der Erkrankung assoziiert sein könnten.

Einige Resultate legen die Vermutung nahe, dass die zwei häufig vorkommenden und eventuell risikosteigernden Haplotypen des RGS4-Gens auch zwischen den unterschiedlichen ethnischen Gruppen möglicherweise dieselben sind. Hinweise hierfür liefern mehrere Untersuchungen, wie beispielsweise die Studie von Chowdari et al. (2002), die in einem indischen Sample zwischen dem Haplotypen rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz T-A-T-T und der Erkrankung eine Assoziation fanden, oder die Analyse von Cordeiro et al. (2005), die für ein brasilianisches Kollektiv eine Assoziation mit dem Haplotypen C-C-C-C berichten. In der Metaanalyse von Talkowski et al. (2006) waren in einer ethnisch gemischten Stichprobe beiden häufig vorkommenden Haplotypen rs10917670-

rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Sequenz C-C-C-C und T-A-T-T mit Schizophrenie bzw. schizoaffectiven Störungen assoziiert (Tabelle 2c, Seite 76).

Aufgrund der variierenden Allel- und Genotypfrequenzen zwischen asiatischen und kaukasischen Populationen (Tabelle 39, Seite 153&154), ist eine Übertragung der Ergebnisse, die an kaukasischen Stichproben gewonnen wurden, auf asiatische Populationen nicht ohne Weiteres möglich. Der Haplotyp rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319, der in kaukasischen Stichproben mit Schizophrenie bzw. schizoaffectiven Störungen assoziiert war (Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75; Tabelle 2c, Seite 76), zeigte weder in einer japanischen (Ishiguro et al. 2007), noch in zwei chinesischen (Zhang et al. 2005 (chinesisches Sample), Guo et al. 2006) oder einer taiwanesischen Stichprobe (Liu et al. 2006) einen Zusammenhang mit der Erkrankung (Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75; Tabelle 2c, Seite 76). Diese negativen Befunde werden von einigen Autoren dahingehend diskutiert, dass das RGS4-Gen oder die bislang von diesem Gen untersuchten Marker in asiatischen Populationen einen möglicherweise geringeren Einfluss auf die Risikosteigerung an Schizophrenie zu erkranken haben. Gegen diese Annahme spricht das Ergebnis einer Analyse von So et al. (2008), die in einem chinesischen Sample einen Zusammenhang zwischen dem Haplotypen rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz C-C-C-C und Schizophrenie fanden.

Auch in den Studien, in denen der Zusammenhang zwischen RGS4 und klinischer Symptomatik der Schizophrenie, Neuroleptika-Response und Endophänotypen untersucht wurden, muss die Ethnizität der Studienteilnehmer berücksichtigt werden. Die Ergebnisse bislang veröffentlichter Studien deuten auf einen Zusammenhang zwischen RGS4-Markern und dem Schweregrad von schizophrenieassoziierten Symptomatik sowie der Neuroleptika-Response in unterschiedlichen - kaukasischen, chinesischen, gemischten - ethnischen Stichproben (Tabelle 3, Seite 85). Allerdings waren in den einzelnen Studien (Kampman et al. 2006, Campbell et al. 2008, Lane et al. 2008, So et al. 2008, Réthelyi et al. 2010) jeweils andere RGS4-Polymorphismen mit dem Schweregrad der klinischen Symptomatik und dem Ansprechen auf Neuroleptika assoziiert, was als Hinweis auf einen möglicherweise ethnizitätsspezifischen Zusammenhang der Marker interpretiert werden kann.

In vier (Prasad et al. 2005, 2009, Buckholtz et al. 2007, Stefanis et al. 2008) der fünf bislang veröffentlichten Studien zum Zusammenhang von RGS4-Polymorphismen und verschiedenen

intermediären Phänotypen wurden Kaukasier untersucht. In der hier vorliegenden Studie wurden ebenfalls kaukasische Personen analysiert, wobei drei RGS4-Marker (rs951436, rs2842030, rs10759) und ein Haplotyp (rs951436-rs951439-rs2661319-rs2842030) mit Leistungen in Gedächtnistests assoziiert waren, zwei weitere RGS4-SNPs zeigten einen tendenziellen Zusammenhang (rs2661319, rs2063142). In den Referenzstudien, in denen kaukasische Stichproben untersucht wurden, waren vor allem die beiden RGS4-Marker rs951436 und rs2661319 mit unterschiedlichen intermediären Phänotypen assoziiert (Prasad et al. 2005, 2009, Buckholtz et al. 2007, Stefanis et al. 2008), was als Hinweis auf einen möglichen Zusammenhang zwischen RGS4-Polymorphismen und mit Schizophrenie assoziierten Endophänotypen angesehen werden kann. Der RGS4-SNP rs951436 war auch in einer chinesischen Stichprobe (So et al. 2008) mit der Leistung in einem Intelligenztest assoziiert, was darauf hindeuten könnte, dass möglicherweise trotz variierender Allel- und Genotypfrequenzen (Tabelle 39, Seite 153&154) die gleichen genetischen Varianten in kaukasischen und asiatischen Populationen mit unterschiedlichen Kognitionsparametern assoziiert sein könnten.

Diagnoseverfahren und Einschlusskriterien

Unterschiedliche klinische Testverfahren und Einschlusskriterien können ebenfalls einen Einfluss auf die Ergebnisse verschiedener Studien haben. In der vorliegenden Untersuchung wurden nur Patienten eingeschlossen, die nach DSM-IV-Kriterien an einer Schizophrenie litten. Die meisten Assoziationsstudien untersuchten ebenfalls Patienten, welche die DSM-III-R- (Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Zhang et al. 2005, Sobell et al. 2005) und/oder die DSM-IV-Kriterien (Chowdari et al. 2002, Williams et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Fallin et al. 2005, Zhang et al. 2005, Liu et al. 2006, Guo et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, Vilella et al. 2007, Wood et al. 2007, So et al. 2008, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009) einer Schizophrenie oder einer Erkrankung aus dem schizophrenen Spektrum erfüllten. Bei einer Stichprobe von Patienten (Rizig et al. 2006, Puri et al. 2007) wurden die ICD-10-Kriterien für Schizophrenie zugrunde gelegt. In den GWAs (Mah et al. 2006, Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008, Shifman et al. 2008, Kirov et al. 2009) wurden ebenfalls DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie und Störungen aus dem schizophrenen Formenkreis angesetzt.

Auch in den Metaanalysen wurden Patienten mit einer DSM-III-R-, DSM-IV- oder ICD-10-Diagnose untersucht. Guo et al. (2006) bezogen in ihrer Metaanalyse Patienten ein, die entweder nach DSM-III-R- (Samples von Morris et al. 2004, Sobell et al. 2005, Zhang et al. 2005) bzw. DSM-IV-Kriterien (Samples von Williams et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Guo et al. 2006) oder ICD-10-Kriterien (Sample von Rizig et al. 2006) an einer Schizophrenie oder einer schizoaffektiven Störung litten. In die Metaanalyse von Li & He (2006) wurden Daten von Patienten aufgenommen, die nach DSM-III-R- (Sample von Morris et al. 2004) oder DSM-IV-Kriterien (Samples von Williams et al. 2004, Cordeiro et al. 2005) an einer Schizophrenie oder einer schizoaffektiven Störung erkrankt waren. Auch Talkowski et al. (2006) bezogen in ihrer Metaanalyse Patienten ein, die entweder nach DSM-III-R- (z.B. Samples von Morris et al. 2004, Sobell et al. 2005 und nichtpublizierte Studien: Brzustowicz/Bassett, Collier/Li, Collier/Feng/St. Clair, etc.) oder DSM-IV-Kriterien (z.B. Samples von Williams et al. 2004, Chen et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, etc.) an einer Schizophrenie oder einer schizoaffektiven Störung litten.

Die Patienten, die in den Studien zum Zusammenhang zwischen RGS4-SNPs und dem Schweregrad der klinischen Symptomatik, der Neuroleptika-Response und Endophänotypen analysiert wurden, erfüllten alle die DSM-IV-Kriterien für Schizophrenie oder eine schizoaffective Störung (Prasad et al. 2005, Kampman et al. 2006, Campbell et al. 2008, Lane et al. 2008, So et al. 2008, Réthelyi et al. 2010).

Da die Kriterien für Schizophrenie und Störungen aus dem schizophrenen Spektrum in den eingesetzten diagnostischen Manualen (DSM-II-R, DSM-IV, ICD-10) ähnlich sind, ist die Vergleichbarkeit der einzelnen Untersuchungen durch die Diagnosestellung wahrscheinlich wenig erschwert. Daher scheint die Verwendung unterschiedlicher Klassifikationssysteme bei der klinischen Diagnosestellung keine Erklärung für die variierenden Ergebnisse.

Die Tatsache, dass in verschiedenen Studien nicht nur Patienten mit einer Schizophrenie sondern auch solche, die an einer schizoaffectiven Störung oder einer anderen Störung aus dem schizophrenen Formenkreis litten, untersucht wurden, kann als eine mögliche Erklärung für divergierende Resultate angesehen werden. In der vorliegenden Untersuchung wurden nur Patienten analysiert, die an einer Schizophrenie litten. In anderen Assoziationsstudien wurden neben Schizophreniepatienten auch solche einbezogen, die an einer schizoaffectiven Störung erkrankt waren (Chowdari et al. 2002, Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Fallin et al. 2005,

Zhang et al. 2005, Sobell et al. 2005, Wood et al. 2007, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009). Auch in den drei Metaanalysen (Guo et al. 2006, Li & He 2006, Talkowski et al. 2006) und einer GWA (Mah et al. 2006) wurden neben Schizophreniepatienten auch Patienten mit einer schizoaffektiven Störung untersucht. Lencz et al. (2007) analysierten in ihrer GWA Daten von Patienten mit einer Störung aus dem schizophrenen Spektrum (Schizophrenie, schizoaffective Störung, schizophreniforme Störung).

Zwar gibt es große Überschneidungsbereiche zwischen den klinischen Symptomen der einzelnen Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis, jedoch ist derzeit nicht geklärt, ob die gleichen genetischen Varianten zur Risikosteigerung für die unterschiedlichen Erkrankungen beitragen. Daher ist vorstellbar, dass in einer gemischten Stichprobe (Schizophreniepatienten und Patienten mit anderen Störungen aus dem schizophrenen Formenkreis) andere RGS4-Marker bzw. andere Allele und/oder Haplotypen assoziiert sind, als in einer Stichprobe, in der ausschließlich Schizophreniepatienten untersucht werden.

In den meisten Assoziationsstudien (Chowdari et al. 2002 (Pittsburgh-Sample), Morris et al. 2004, Chen et al. 2004, Fallin et al. 2005, Sobell et al. 2005, Wood et al. 2007, Sanders et al. 2008) wurden gesonderte Analysen für die Gruppe der schizophrenen Patienten durchgeführt, obwohl die Anzahl der untersuchten Personen dadurch erheblich reduziert wurde. Allerdings sind die Ergebnisse auch zwischen den nur auf Schizophreniepatienten bezogenen Berechnungen inkonsistent. Die mit der Erkrankung assoziierten RGS4-SNPs, Allele und Haplotypen variieren zwischen der vorliegenden Studie und den Referenzstudien - die sich nur auf Schizophreniepatienten beziehen - ebenso wie zwischen den unterschiedlichen Referenzstudien an Schizophreniepatienten (Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75; Tabelle 2c, Seite 76). Daraus kann der Schluss gezogen werden, dass die Zusammensetzung der Patientenstichprobe keine hinreichende Erklärung für die divergierenden Ergebnisse sein kann.

Auch die Zusammensetzung der Kontrollprobanden kann einen Einfluss auf die Resultate einer Untersuchung haben und somit eine Erklärung für differierende Ergebnisse sein. Während in der vorliegenden Studie nur Kontrollprobanden eingeschlossen wurden, die selbst an keiner psychiatrischen oder für die Studie relevanten somatischen Erkrankung litten und auch keine positive psychiatrische Familienanamnese hatten, waren die Kontrollen der meisten Fall-Kontroll-Assoziationsstudien Personen, die nicht explizit auf das Vorliegen

psychiatrischer Erkrankungen gescreent wurden (Chowdari et al. 2002, Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Zhang et al. 2005, So et al. 2008), wobei die Mehrzahl der Assoziationsstudien Blutspender als Kontrollprobanden heranzog (Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Zhang et al. 2005, So et al. 2008). Die Kontrollprobanden der Metaanalyse von Guo et al. (2006) wurden vor Studieneinschluss teilweise auf das Vorliegen eigener psychiatrischer Erkrankungen gescreent (Samples von Sobell et al. 2005, Rizig et al. 2006), teilweise erfolgte keine derartige Überprüfung (Samples von Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, Zhang et al. 2005). In den Studien, die Li & He (2006) in ihre Metaanalyse einbezogen (Samples von Chowdari et al. 2002, Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Cordeiro et al. 2005), wurden die Kontrollprobanden nicht auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen gescreent. Talkowski et al. (2006) bezogen in ihre Metaanalyse zum Teil dieselben Studien ein, wie Guo et al. (2006) und Li & He (2006). Die Kontrollprobanden wurden entsprechend nur in einigen Primärstudien (z.B. Sample von Sobell et al. 2005) im Vorfeld der Untersuchung ausgeschlossen falls psychiatrische Erkrankungen vorlagen. Andere Primärstudien führten kein Screening bezüglich derartiger Erkrankungen durch (z.B. Samples von Chowdari et al. 2002, Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Cordeiro et al. 2005, etc.). Auch in zwei GWAs wurden Blutspender als Kontrollen analysiert, die nicht explizit auf das Vorliegen von psychiatrischen Erkrankungen untersucht wurden (Kirov et al. 2009, Shifman et al. 2008). In die GWA von O'Donovan et al. (2008) wurden Kontrollprobanden eingeschlossen, die in einigen Stichproben vor Studieneinschluss auf das Vorliegen psychischer Erkrankungen gescreent wurden (Samples aus Deutschland (München, Bonn), Japan und US/Australien) während in anderen Samples kein derartiges Ausschlussverfahren erfolgte (irisches, bulgarisches, chinesisches und israelitisches Sample).

Daher besteht die Möglichkeit, dass die abweichenden Ergebnisse zwischen der vorliegenden Studie und den aufgeführten Referenzstudien auf die Tatsache zurückzuführen sind, dass in den Referenzstudien auch Kontrollen einbezogen worden sind, die möglicherweise an einer Schizophrenie oder einer anderen psychiatrischen Erkrankung gelitten haben und daher eventuell die gleichen genetischen Varianten im RGS4-Gen aufweisen wie die Schizophreniepatienten. Auch besteht die Möglichkeit, dass die Personen, die in den Referenzstudien als Kontrollen untersucht wurden, phänotypisch nicht an einer Schizophrenie oder einer anderen psychiatrischen Erkrankung litten, jedoch ein erhöhtes Risiko für eine derartige Erkrankung hatten und daher ähnliche genetische Varianten im RGS4-Gen

aufwiesen wie die Schizophreniepatienten. In der vorliegenden Studie wurde versucht solche Personen als Kontrollprobanden auszuschließen, indem nur Probanden eingeschlossen wurden, in deren Familie keine psychiatrischen Erkrankungen bekannt waren.

Lediglich in fünf Assoziationsstudien lagen ähnliche Ein- bzw. Ausschlusskriterien vor, wie in der vorliegenden Untersuchung: Sobell et al. (2005) schlossen Personen mit einer psychotischen Erkrankung als Kontrollprobanden ebenso aus wie Vilella et al. (2007), Ishiguro et al. (2007), Sanders et al. (2008) und Betcheva et al. (2009). Rizig et al. (2006) & Puri et al. (2007) screenen ihre Kontrollprobanden vor Studieneinschluss auf das Vorliegen von psychiatrischen Erkrankungen und schlossen Personen aus, deren Familienangehörige an Schizophrenie, Bipolaren Störungen oder Alkoholabusus litten. Die Kontrollprobanden der GWAs wurden vor Studieneinschluss in drei Untersuchungen genauer überprüft (Mah et al. 2006, Lencz et al. 2007, Sullivan et al. 2008). Die Kontrollen in der GWA von Mah et al. (2006) waren Blutspender, die nur dann in die Studie eingeschlossen wurden, wenn ihre Verwandten an keiner neuropsychiatrischen Erkrankung litten oder jemals gelitten hatten (Mah et al. 2006). Bei Lencz et al. (2007) waren Ausschlusskriterien für die Kontrollprobanden das Vorliegen eigener früherer oder derzeitiger psychischer Erkrankungen einschließlich Substanzabusus (DSM-IV Achse-I-Störungen), die Behandlung mit Psychopharmaka sowie die Existenz derartiger Störungen bei Verwandten ersten Grades (Lencz et al. 2007). Bei Sullivan et al. (2008) durften die Kontrollen nie an einer Schizophrenie, einer schizoaffektiven oder einer bipolaren Störung gelitten haben, auch das Vorliegen von Wahn und akustischen Halluzinationen bedeutete den Ausschluss aus der Studie (Sullivan et al. 2008).

Obwohl die Ein- und Ausschlusskriterien für Kontrollprobanden zwischen diesen Assoziationsstudien und GWAs und der vorliegenden Untersuchung ähnlich sind und auch zum Teil die gleichen RGS4-Marker auf einen möglichen Zusammenhang mit der Erkrankung untersucht wurden, differieren die Ergebnisse. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung, in der drei der sechs analysierten Polymorphismen des RGS4-Gens mit Schizophrenie assoziiert waren und ein SNP einen Trend zur Assoziation zeigte, wurde in keiner der dargestellten Assoziationsstudien und GWAs ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Erkrankung und RGS4-Markern gefunden. Daher sind die divergierenden Resultate zwischen den einzelnen Studien nicht primär auf das mögliche Vorliegen von psychiatrischen Erkrankungen bei den Kontrollprobanden oder deren

Familienangehörigen zurückzuführen. Möglicherweise unterscheiden sich die untersuchten Kontrollkollektive auch hinsichtlich der Alters- und Geschlechtsverteilung, was unter Umständen ebenfalls Einfluss auf die divergierenden Ergebnisse der einzelnen Studien haben könnte.

Von den Referenzstudien in denen der Zusammenhang zwischen RGS4-Markern und Endophänotypen untersucht wurde, bezogen zwei Analysen (Prasad et al. 2005, So et al. 2008) neben Patienten auch Kontrollprobanden ein. So et al. (2008) untersuchten Blutspender als Kontrollen, die nicht auf das Vorliegen von psychiatrischen Erkrankungen gescreent wurden. Prasad et al. (2005) bezogen Personen ein, die im letzten Monat keinen Substanzabusus aufwiesen und an keinen relevanten somatischen bzw. neurologischen Erkrankungen litten. In der vorliegenden Studie wurden nur Personen als Kontrollprobanden aufgenommen, die selber nie an einer psychiatrischen Störung gelitten hatten, ebenso wenig wie ihre Familienangehörigen. Daher besteht die Möglichkeit, dass die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Studien aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der Kontrollprobanden eingeschränkt ist. Möglicherweise wurden in den Studien von Prasad et al. (2005) und So et al. (2008) auch Personen als Kontrollprobanden eingeschlossen, die an einer psychiatrischen Erkrankung litten oder in der Vorgeschichte daran erkrankt waren oder deren Familienangehörige solche Erkrankungen hatten. Personen mit unterschiedlichen psychiatrischen Störungen weisen häufig weniger gut ausgebildete kognitive Fähigkeiten auf im Vergleich zu Personen ohne derartige Erkrankungen, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse stark einschränkt. Gottesman & Gould (2003) nehmen auch an, dass bei gesunden Angehörigen von erkrankten Familienmitgliedern ein bestimmter Endophänotyp - beispielsweise eine schlechtere Leistung in kognitiven Tests - häufiger auftritt als in der Allgemeinbevölkerung, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Referenzstudien mit der vorliegenden Studie ebenfalls erschwert.

Studiendesign

Die bereits dargestellten Assoziationsstudien, die den Zusammenhang zwischen dem RGS4-Gen und der Schizophrenie untersuchten, setzten entweder ein familienbasiertes- oder ein Fall-Kontroll-Design ein. In einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie werden die Häufigkeiten bestimmter Markerallele bei Patienten und gesunden Kontrollprobanden verglichen, wodurch die relativen Erkrankungsrisiken abgeschätzt werden, die von diesen genetischen

Einflussfaktoren ausgehen. Genetische Unterschiede zwischen ethnischen, sozialen und geographischen Schichten in der zu untersuchenden Population können jedoch zu einer Verfälschung der Risikoschätzung führen. Hierdurch könnten genetische Unterschiede zwischen den beiden Gruppen gefunden werden, die nicht mit der Erkrankung assoziiert sind. Diesem Problem der falsch-positiven Assoziationen aufgrund von Populationsstratifikation kann dadurch vorgebeugt werden, dass bei der Auswahl der Kontrollprobanden sorgfältig auf die Vergleichbarkeit hinsichtlich der ethnischen, sozialen und geographischen Herkunft der Patienten geachtet wird. Das Ausmaß an verbleibender Schichtung kann in einer konkreten Studie dadurch ermittelt werden, dass eine hinreichend große Anzahl zusätzlicher Markerallele untersucht wird, die nicht selbst Teil der eigentlichen Assoziationsstudie sind.

Eine andere Möglichkeit das Problem der falsch positiven Assoziationen durch Populationsstratifikation zu lösen, ist der Einsatz familienbasierter Assoziationsstudien, die den Transmission Disequilibrium Test (TDT, Spielman et al. 1993) einsetzen. Der TDT dient dem Nachweis der bevorzugten Vererbung spezieller Markerallele von Eltern auf ihre erkrankten Kinder, wobei nur Eltern untersucht werden, die heterozygot für das Markerallel sind. Da die beiden nicht-transmittierten elterlichen Allele als interne Kontrollgruppe fungieren, bietet dieses Untersuchungsdesign die höchstmögliche Homogenität (Falk & Rubinstein 1987). Hierdurch ist der TDT im Gegensatz zu Fall-Kontroll-Assoziationsstudien robuster gegenüber Stratifizierungen innerhalb der untersuchten Population. Allerdings besitzt der TDT weniger statistische Power zur Detektierung von Assoziationen, da hier nur heterozygote Elternteile Segregationsinformationen liefern und in die Berechnung eingehen. Beim TDT deutet jede Abweichung des Verhältnisses zwischen Vererbung und Nicht-Vererbung eines Allels von dem erwarteten Quotienten 1:1 sowohl auf Kopplung als auch auf LD zwischen Marker- und Risikogen hin. Der TDT ist ein kombinierter Kopplungs-Assoziationstest; eine Assoziation wird nur dann gefunden, wenn eine Kopplung vorliegt und umgekehrt. Ist das Ergebnis des Tests signifikant, so liegen Assoziation und Kopplung vor. Ein nicht signifikantes Resultat deutet auf das Nichtvorhandensein einer Assoziation oder einer Kopplung hin.

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen RGS4-Polymorphismen und der Schizophrenie wurden sowohl familienbasierte (Chen et al. 2004, Fallin et al. 2005, Liu et al. 2006) als auch Fall-Kontroll-Assoziationsstudien (Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Sobell et al. 2005, Guo et al. 2006, Ishiguro et al. 2007, Rizig et al. 2006 & Puri et al. 2007,

Vilella et al. 2007, Wood et al. 2007, So et al. 2008, Sanders et al. 2008, Betcheva et al. 2009) eingesetzt. In einigen Untersuchungen fanden beide Methoden Anwendung (Chowdari et al. 2002, Cordeiro et al. 2005, Zhang et al. 2005). Die vorliegende Studie basiert auf einem Fall-Kontroll-Design. Die Ergebnisse zwischen der vorliegenden Untersuchung und den Referenzstudien, die ebenfalls ein Fall-Kontroll-Design einsetzen, variieren jedoch genauso wie zwischen den einzelnen Referenzstudien mit dem gleichen Studiendesign. In den Fall-Kontroll-Assoziationsstudien wurden beide Haplotypen (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz G-G-G-G vs. A-T-A-A, Tabelle 2a, Seite 74) mit der Erkrankung assoziiert gefunden. Auch die mit der Erkrankung assoziierten RGS4-SNPs und Allele differierten zwischen den einzelnen Studien auch bei gleicher Ethnizität der Untersuchten (Tabelle 2a, Seite 74; Tabelle 2b, Seite 75). Auch in den familienbasierten Studien, die den TDT einsetzen, wurde eine Übertransmission unterschiedlicher Haplotypen des RGS4-Gens (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz G-G-G-G vs. A-T-A-A, Tabelle 2a, Seite 74) in ethnisch nicht differierenden Untersuchungsgruppen gefunden. Daher ist nicht davon auszugehen, dass die unterschiedlichen Untersuchungsdesigns für die divergierenden Ergebnisse verantwortlich sind.

Auch in den Metaanalysen und GWAs wurden beide Studiendesigns eingesetzt. Guo et al. (2006) bezogen in ihre Metaanalyse nur Studien mit einem Fall-Kontroll-Design ein (Williams et al. 2004, Morris et al. 2004, Cordeiro et al. 2004, Sobell et al. 2005, Zhang et al. 2005, Rizig et al. 2006, Guo et al. 2006). Li & He (2006) analysierten in ihrer Metaanalyse die Daten von Fall-Kontroll-Assoziationsstudien (Morris et al. 2004, Williams et al. 2004, Cordeiro et al. 2004) und von Studien mit familienbasiertem Design (Chowdari et al. 2002, Cordeiro et al. 2004). Talkowski et al. (2006) bezogen ebenfalls Primärstudien mit einem Fall-Kontroll-Design (z.B. Morris et al. 2004, Williams et al. 2004, etc.) und solche mit familienbasierten Daten (z.B. Chowdari et al. 2002, Chen et al. 2004, etc.) ein. In weiteren Analysen wurden beide Methoden angewandt (z.B. Cordeiro et al. 2004). In der Metaanalyse von Talkowski et al. (2006) waren beide häufig vorkommenden Haplotypen (rs10917670-rs951436-rs951439-rs2661319 mit der Allelsequenz G-G-G-G vs. A-T-A-A, Tabelle 2c, Seite 76) bei schizophrenen Patienten übertransmittiert, während in den anderen beiden Metaanalysen weder die untersuchten RGS4-SNPs noch die Haplotypen mit der Erkrankung assoziiert waren. Drei der GWAs setzten ein Fall-Kontroll-Design ein (Lencz et al. 2007, Shifman et al. 2008, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008), zwei ein familienbasiertes Design und Kontrollprobanden (Mah et al. 2006, Kirov et al. 2008). In keiner der

durchgeführten GWAs wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen den untersuchten RGS4-Polymorphismen und Schizophrenie bzw. schizoaffektiver Störung gefunden, was zumindest bei den drei Untersuchungen, die ein Fall-Kontroll-Design anwandten (Lencz et al. 2007, Shifman et al. 2008, Sullivan et al. 2008, O'Donovan et al. 2008) nicht auf das Untersuchungsdesign zurückzuführen ist.

In den Studien, die den Zusammenhang zwischen RGS4-SNPs und dem Schweregrad klinischer Symptomatik oder der Neuroleptika-Response untersuchten, wurden keine familienbasierten Designs eingesetzt, so dass differierende Ergebnisse nicht von unterschiedlichen Studiendesigns herrühren können.

Zur Untersuchung von Assoziationen zwischen Polymorphismen des RGS4-Gens und Endophänotypen wurden sowohl Fall-Kontroll- (Prasad et al. 2005, So et al. 2008) als auch familienbasierte (Prasad et al. 2009) Assoziationsstudien eingesetzt. In zwei Studien (Buckholtz et al. 2007, Stefanis et al. 2008) wurden nur gesunde Kontrollprobanden untersucht, was die Vergleichbarkeit dieser Ergebnisse mit denen der vorliegenden Untersuchung erschwert.

Diagnostik neuropsychologischer Endophänotypen

In der vorliegenden Studie wurde zur Diagnostik des neuropsychologischen Endophänotypen verbales Gedächtnis der Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (WMS-R, Härting et al. 2000) und der Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT, Helmstaedter et al. 2001) eingesetzt. Die Gütekriterien beider Verfahren deuten darauf hin, dass es sich um objektive und ausreichend reliable und valide Messinstrumente handelt. Da die Durchführungs- und Auswertungsobjektivität der Tests in der vorliegenden Untersuchung durch Kontrollen der Studienleitung optimiert wurden, kann davon ausgegangen werden, dass die Ergebnisse dieser Studie objektiv sind. Aufgrund der Tatsache, dass die Kognition verbales Gedächtnis aber ein komplexes Konstrukt zu sein scheint, bleibt die Frage, welche Aspekte dieses Konstruktes von den beiden hier eingesetzten Tests bzw. deren Untertests genau erfasst wurden. In den Referenzstudien kamen andere als die beiden hier verwendeten Verfahren (WMS-R, VLMT) zum Einsatz. Prasad et al. (2009) erfassten die Schnelligkeit und Genauigkeit von acht Kognitionen: Abstraktionsvermögen/mentale Flexibilität, räumliches Gedächtnis, Aufmerksamkeit, „räumliche Verarbeitung“ (spacial processing), verbales Gedächtnis,

sensomotorische Fertigkeit, „face memory“ und emotionale Verarbeitung. Die Leistungen im Bereich verbales Gedächtnis wurden bei Prasad et al. (2009) mit dem Penn Word Memory Test erfasst, welcher ähnlich aufgebaut ist, wie der in der vorliegenden Studie eingesetzte Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT). Sowohl in der vorliegenden Untersuchung als auch in den Analysen von Prasad et al. (2009) zeigten RGS4-Polymorphismen Assoziationen mit den Leistungen in den jeweiligen Tests zur Erfassung des verbalen Gedächtnisses, obwohl bei Prasad et al. (2009) diese nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant waren. So et al. (2008) untersuchten nicht explizit Leistungen im Bereich verbales Gedächtnis und setzten den Wechsler Adult Intelligence Test (WAIS), den Cambridge Neurological Inventory, den Stroop Test und einer Wortflüssigkeitsaufgabe ein, was eine Vergleichbarkeit dieser Ergebnisse mit den Resultaten der vorliegenden Untersuchung erschwert.

6.3 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung deuten auf einen Zusammenhang des RGS4-Gens sowohl mit Schizophrenie als auch mit dem neuropsychologischen Endophänotypen verbales Gedächtnis hin. Die Ergebnislage ist im Hinblick auf Assoziationen des RGS4-Gens und Schizophrenie jedoch insgesamt inkonsistent in Bezug auf krankheitsassoziierte SNPs, Allele und Haplotypen. Derzeit sind die RGS4-Polymorphismen, die mit einem erhöhten Risiko an einer Schizophrenie zu erkranken, assoziiert sind, weiterhin unbekannt. Die bislang untersuchten und mit Schizophrenie assoziierten Marker müssen weiterhin in Replikationsstudien und genomweiten Assoziationsstudien untersucht werden, bevor von einer Relevanz dieser Polymorphismen für die Erhöhung des Krankheitsrisikos gesprochen werden kann.

Ausgehend von der Annahme, dass unter der Diagnose Schizophrenie mehrere miteinander verwandte Störungen subsumiert werden, denen möglicherweise unterschiedliche genetische Risikovarianten zugrunde liegen, kann durch eine Auswahl der Patienten aufgrund der Klassifikation nach den gängigen Klassifikationssystemen (ICD-10 und DSM-IV) die Problematik der Heterogenität auf ätiologischer Ebene möglicherweise nicht gelöst werden. Daher ist die Untersuchung von ätiologisch homogenen Patientengruppen sinnvoll. Eine derartige Subtypisierung versucht das Konzept der Endophänotypen vorzunehmen. Das Ziel dieses Ansatzes ist die Identifikation genetischer Varianten, die nicht nur mit dem

untersuchten Endophänotypen assoziiert sind, sondern sich auch als Vulnerabilitätsmarker für den klinischen Phänotypen wie beispielsweise die Schizophrenie erweisen.

Die vorliegende Studie ist eine Untersuchung, die sich mit dem Zusammenhang von RGS4-Polymorphismen und dem neuropsychologischen Endophänotypen verbales Gedächtnis befasst. Die in dieser Arbeit gefundene Assoziation von vier der sechs untersuchten Marker des RGS4-Gens mit verbalem Gedächtnis muss in weiteren unabhängigen Stichproben zunächst repliziert werden, bevor von einem gesicherten Befund gesprochen werden kann.

Dem Konzept der Endophänotypen folgend, können intermediäre Phänotypen auch den Ausgangspunkt für eine neue, biologisch orientierte Klassifikation komplexer psychiatrischer Störungen wie der Schizophrenie darstellen. Daher wäre es interessant in weiteren Untersuchungen die hier assoziierten Marker in Hinblick auf einen Zusammenhang mit anderen psychischen - speziell auch psychotischen - Störungen zu untersuchen. Auch ein Zusammenhang zwischen RGS4-Polymorphismen und weiteren neuropsychologischen, aber auch neurophysiologischen Endophänotypen ist möglich, was ebenfalls in weiteren Untersuchungen genauer analysiert werden sollte.

Die Identifikation der Genvarianten, die mit dem Erkrankungsrisiko für die Schizophrenie assoziiert sind, ist der erste Schritt im Bemühen um das Verständnis, wie Gene die Erkrankung beeinflussen könnten. In einem nächsten Schritt ist die Analyse der funktionellen Relevanz der assoziierten Allele wichtig, die für die bislang untersuchten RGS4-Polymorphismen noch unbekannt ist. Alle untersuchten SNPs liegen in nichtkodierenden Genregionen (Introns, 5'-, 3'-UTR oder 5'-, 3'-Intergenregion des Gens), so dass eine Rolle dieser Polymorphismen bei der Transkriptionsregulation des Gens denkbar ist. Daher sollte die funktionelle Relevanz der assoziierten Allele und Haplotypen in weiteren Studien untersucht werden, wobei auch exonische Marker, die einen Einfluss auf Proteinebene haben könnten, in die Analyse mit einbezogen werden sollten. Auch interzelluläre Effektorproteine, die von den RGS4-Proteinen beeinflusst werden sowie die Umgebungsfaktoren, die die Genexpression beeinflussen, sollten in weiteren Studien genauer untersucht werden.

Wenn die Funktion der krankheitsassoziierten Genvarianten bekannt ist, können auch die bislang unbekannten molekularen Pathways untersucht werden, die zum Zusammenhang zwischen RGS4-Polymorphismen und Schizophrenie sowie zum Zusammenhang dieser

Marker mit neuropsychologischen Endophänotypen führen. Möglicherweise beeinflusst eine abnorme Neurotransmission, in welche RGS4-Proteine involviert sind, beide Phänotypen (Schizophrenie und verbales Gedächtnis), die in dieser Studie mit RGS4-Polymorphismen assoziiert waren. Weitere Studien sind nötig, um diesen Zusammenhang in unabhängigen Stichproben zu replizieren und auch genauer zu erleuchten.

Die Kenntnis der mit Schizophrenie assoziierten und womöglich kausalen genetischen Varianten sowie der involvierten molekularen Pathways würde eine kausale Therapie der Erkrankung ermöglichen. Auch könnten Art und Dosierung der Medikation in Abhängigkeit von der genetischen Basis der Erkrankung bei Patienten individuell angepasst werden. Auch die Hoffnung auf eine frühere und zuverlässigere Diagnosestellung sowie präventive Maßnahmen gegen den Ausbruch der Erkrankung sind mit einem besseren Verständnis der Pathogenese der Erkrankung verbunden.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
AS	Aminosäure
AV	abhängige Variable
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CNV	Copy Number Variation
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
Da	Dalton
DG	Durchgang (VLMT)
DLPFC	dorsolateraler präfrontaler Kortex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) der American Psychiatric Association (APA)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ERBB4	v-erb-a erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4 (avian)
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
GAS	Global Assessment Scale
GDI	Guanine nucleotide dissociation inhibitor, Guaninnukleotid-Dissoziations-Inhibitor
gDNA	Genomische Desoxyribonukleinsäure
GDP	Guanosindiphosphat
GPCR	G-protein coupled receptor, G-Protein gekoppelter Rezeptor
G-Proteine	Guaninnukleotid-bindende Proteine
GTP	Guanosintriphosphat
GWA	genomweite Assoziationsstudie
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991
HCl	Salzsäure
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
ICD 10	International Classification of Diseases (Tenth Edition), Klassifikationssystem für Krankheiten der Weltgesundheitsorganisation (WHO)
IQ	Intelligenzquotient

kb	Kilobase
LD	Linkage Disequilibrium; Kopplungsungleichgewicht
LOD	logarithm of the odds oder auch logarithmic odds ratio
LSD	Lysergsäurediethylamid
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Massenspektrometer
MANOVA	Multivariate Analyse der Varianz
Mb	Megabase(n)
mbar	Millibar
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
ml	Milliliter
mM	Millimol
MMST	Mini-Mental-Status-Test
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ng	Nanogramm
NIMH	the National Institutes of Mental Health
nM	Nanomol
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NRG1	Neuregulin 1
ns	Nanosekunde
NVLT	Nonverbaler Lerntest
ORF	open reading frame, offenes Leseraster
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerasekettenreaktion
PFC	Präfrontaler Kortex
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-konzentration
PPI	Präpulsinhibition
RGS	Regulator of G-Protein signalling
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
RWT	Regensburger Wortflüssigkeitstest
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I

SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse II
SNP	Single-Nucleotid-Polymorphism; Einzel-Nukleotid-Polymorphismus
TDT	Transmission Disequilibrium Test
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
U	Unit, Einheit der Enzymaktivität
UTR	Untranslatierte Region
UV	unabhängige Variable
VLMT	Verbal Learning and Memory Test; Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest
VLT	Verbaler Lerntest
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WMS-III	Wechsler Memory Scale, Third Edition
WMS-R	Wechsler Memory Scale, Revised
ZVT	Zahlen-Verbindungs-Test
λ (lambda)	Wellenlänge
μM	Mikromol
μl	Mikroliter
μs	Mikrosekunden

8 Literaturverzeichnis

Abi-Dargham A, Gil R, Krystal J, Baldwin RM, Seibyl JP, Bowers M, van Dyck CH, Charney DS, Innis RB, Laruelle M (1998) Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry* 155(6): 761-767.

Abi-Dargham A, Rodenhiser J, Printz D, Zea-Ponce Y, Gil R, Kegeles LS, Weiss R, Cooper TB, Mann JJ, Van Heertum RL, Gorman JM, Laruelle M (2000) Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(14): 8104-8109.

Abi-Dargham A, Moore H (2003) Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. *Neuroscientist* 9(5): 404-416.

Abi-Dargham A, Kegeles LS, Zea-Ponce Y, Mawlawi O, Martinez D, Mitropoulou V, O'Flynn K, Koenigsberg HW, Van Heertum R, Cooper T, Laruelle M, Siever LJ (2004) Striatal amphetamine-induced dopamine release in patients with schizotypal personality disorder studied with single photon emission computed tomography and [123I]iodobenzamide. *Biol Psychiatry* 55(10): 1001-1006.

Abi-Saab WM, D'Souza DC, Moghaddam B, Krystal JH (1998) The NMDA antagonist model for schizophrenia: promise and pitfalls. *Pharmacopsychiatry* 31 Suppl 2: 104-109.

Abramow-Newerly M, Roy AA, Nunn C, Chidiac P (2006) RGS proteins have a signalling complex: interactions between RGS proteins and GPCRs, effectors, and auxiliary proteins. *Cell Signal* 18(5): 579-591.

Aleman A, Hijman R, de Haan EH, Kahn RS (1999) Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* 156(9): 1358-1366.

Aleman A, Kahn RS, Selten JP (2003) Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis *Arch Gen Psychiatry* 60(6): 565-571.

Allen DN, Goldstein G, Warnick E (2003) A consideration of neuropsychologically normal schizophrenia. *J Int Neuropsychol Soc* 9(1): 56-63.

Anand A, Verhoeff P, Seneca N, Zoghbi SS, Seibyl JP, Charney DS, Innis RB (2000) Brain SPECT imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patients. *Am J Psychiatry* 157(7): 1108-1114.

Andreasen NC (1999) A unitary model of schizophrenia: Bleuler's "fragmented phrene" as schizencephaly. *Arch Gen Psychiatry* 56(9): 781-787.

Antonova E, Sharma T, Morris R, Kumari V (2004) The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: a selective review. *Schizophr Res* 70: 117-145.

Aschenbrenner S, Tucha O, Lange KW (2000) *Regensburger Wortflüssigkeitstest*. Göttingen: Hogrefe.

Attwood TK, Findlay JB (1994) Fingerprinting G-protein-coupled receptors. *Protein Eng* 7(2): 195-203.

Autism Genome Project Consortium (2007) Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements. *Nat Genet* 39(3): 319-328.

Badner JA, Gershon ES (2002) Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7(4): 405-411.

Bailer U, Aschauer H, Kasper S (2002) Genetik der Schizophrenie. *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie* 3(3): 25-31.

Bakker SC, Hoogendoorn ML, Hendriks J, Verzijlbergen K, Caron S, Verduijn W, Selten JP, Pearson PL, Kahn RS, Sinke RJ (2007) The PIP5K2A and RGS4 genes are differentially associated with deficit and non-deficit schizophrenia. *Genes Brain Behav* 6(2): 113-119.

Bansal G, Druey KM, Xie Z (2007) R4 RGS proteins: regulation of G-protein signaling and beyond. *Pharmacol Ther* 116(3): 473-495.

Barnes TR, Mutsatsa SH, Hutton SB, Watt HC, Joyce EM (2006) Comorbid substance use and age at onset of schizophrenia. *Br J Psychiatry* 188: 237-242.

Barr CE, Mednick SA, Munk-Jorgensen P (1990) Exposure to influenza epidemics during gestation and adult schizophrenia. A 40-year study. *Arch Gen Psychiatry* 47(9): 869-874.

Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 21(2): 263-265.

Battle YL, Martin BC, Dorfman JH, Miller LS (1999) Seasonality and infectious disease in schizophrenia: the birth hypothesis revisited. *J Psychiatr Res* 33(6): 501-509.

Beatty WW, Jovic Z, Monson N, Staton RD (1993) Memory and frontal lobe dysfunction in schizophrenia and schizoaffective disorder. *J Nerv Ment Dis* 181(7): 448-453.

Benes FM (2000) Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* 31(2-3): 251-269.

Bergson C, Mrzljak L, Smiley JF, Pappy M, Levenson R, Goldman-Rakic PS (1995) Regional, cellular, and subcellular variations in the distribution of D1 and D5 dopamine receptors in primate brain. *J Neurosci* 15(12): 7821-7836.

Berman DM, Wilkie TM, Gilman AG (1996) GAIP and RGS4 are GTPase-activating proteins for the Gi subfamily of G protein alpha subunits. *Cell* 86(3): 445-452.

Betcheva ET, Mushiroda T, Takahashi A, Kubo M, Karachanak SK, Zaharieva IT, Vazharova RV, Dimova II, Milanova VK, Tolev T, Kirov G, Owen MJ, O'Donovan MC, Kamatani N, Nakamura Y, Toncheva DI (2009) Case-control association study of 59 candidate genes reveals the DRD2 SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population. *J Hum Genet* 54(2): 98-107.

Beyer CE, Ghavami A, Lin Q, Sung A, Rhodes KJ, Dawson LA, Schechter LE, Young KH (2004) Regulators of G-protein signaling 4: modulation of 5-HT1A-mediated neurotransmitter release in vivo. *Brain Res* 1022(1-2): 214-220.

Bilder RM, Bogerts B, Ashtari M, Wu H, Alvir JM, Jody D, Reiter G, Bell L, Lieberman JA (1995) Anterior hippocampal volume reductions predict frontal lobe dysfunction in first episode schizophrenia. *Schizophr Res* 17: 47-58.

Birnbaumer L (2007) Expansion of signal transduction by G proteins. The second 15 years or so: from 3 to 16 alpha subunits plus betagamma dimers. *Biochim Biophys Acta* 1768(4): 772-793.

Bishop GB, Cullinan WE, Curran E, Gutstein HB (2002) Abused drugs modulate RGS4 mRNA levels in rat brain: comparison between acute drug treatment and a drug challenge after chronic treatment. *Neurobiol Dis* 10(3): 334-343.

Bleuler E (1911) *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*. In Aschaffenburg G (ed) *Handbuch der Psychiatrie*. Leipzig: Franz Deuticke.

Bodenstein J, Sunahara RK, Neubig RR (2007) N-terminal residues control proteasomal degradation of RGS2, RGS4, and RGS5 in human embryonic kidney 293 cells. *Mol Pharmacol* 71(4): 1040-1050.

Bouchard TJ Jr (1998) Genetic and environmental influences on adult intelligence and special mental abilities. *Hum Biol* 70(2): 257-279.

Bowden NA, Scott RJ, Tooney PA (2007) Altered expression of regulator of G-protein signalling 4 (RGS4) mRNA in the superior temporal gyrus in schizophrenia. *Schizophr Res* 89(1-3): 165-168.

Bowie CR, Harvey PD (2005) Cognition in schizophrenia: impairments, determinants, and functional importance. *Psychiatr Clin North Am* 28(3): 613-633, 626.

Braff DL, Geyer MA, Swerdlow NR. (2001) Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology (Berl)* 156(2-3): 234-258.

Braff DL, Freedman R, Schork NJ, Gottesman II (2007) Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophr Bull* 33(1): 21-32.

Braff DL, Greenwood TA, Swerdlow NR, Light GA, Schork NJ; The Investigators of the Consortium on the Genetics of Schizophrenia (2008) Advances in endophenotyping schizophrenia. *World Psychiatry* 7(1): 11-18.

Brébion G, Amador X, Smith MJ, Gorman JM (1997) Mechanisms underlying memory impairment in schizophrenia. *Psychol Med* 27(2): 383-393.

Brébion G, Bressan RA, Amador X, Malaspina D, Gorman JM (2004) Medications and verbal memory impairment in schizophrenia: the role of anticholinergic drugs. *Psychol Med* 34(2): 369-374.

Breier A, Su TP, Saunders R, Carson RE, Kolachana BS, de Bartolomeis A, Weinberger DR, Weisenfeld N, Malhotra AK, Eckelman WC, Pickar D (1997) Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(6): 2569-2574.

Breitborde NJ, López SR, Wickens TD, Jenkins JH, Karno M (2007) Toward specifying the nature of the relationship between expressed emotion and schizophrenic relapse: the utility of curvilinear models. *Int J Methods Psychiatr Res* 16(1): 1-10.

Brickenkamp R (2002) *Test d2 Aufmerksamkeits-Belastungs-Test*. Hogrefe: Göttingen.

Brown AS, Schaefer CA, Wyatt RJ, Goetz R, Begg MD, Gorman JM, Susser ES (2000) Maternal exposure to respiratory infections and adult schizophrenia spectrum disorders: a prospective birth cohort study. *Schizophr Bull* 26(2): 287-295.

Brown AS, Cohen P, Harkavy-Friedman J, Babulas V, Malaspina D, Gorman JM, Susser ES (2001) A.E. Bennett Research Award. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia. *Biol Psychiatry* 49(6): 473-486.

Brown AS, Susser ES (2002) In utero infection and adult schizophrenia. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 8(1): 51-57.

Brown AS (2006) Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia. *Schizophr Bull* 32(2): 200-202.

Brzustowicz LM, Hodgkinson KA, Chow EW, Honer WG, Bassett AS (2000) Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science* 288(5466): 678-682.

Brzustowicz LM, Hayter JE, Hodgkinson KA, Chow EW, Bassett AS (2002) Fine mapping of the schizophrenia susceptibility locus on chromosome 1q22. *Hum Hered* 54(4): 199-209.

Buchanan RW, Davis M, Goff D, Green MF, Keefe RS, Leon AC, Nuechterlein KH, Laughren T, Levin R, Stover E, Fenton W, Marder SR (2005) A summary of the FDA-NIMH-MATRICES workshop on clinical trial design for neurocognitive drugs for schizophrenia. *Schizophr Bull* 31(1): 5-19.

Buckholtz JW, Meyer-Lindenberg A, Honea RA, Straub RE, Pezawas L, Egan MF, Vakkalanka R, Kolachana B, Verchinski BA, Sust S, Mattay VS, Weinberger DR, Callicott JH (2007) Allelic variation in RGS4 impacts functional and structural connectivity in the human brain. *J Neurosci* 27(7): 1584-1593.

Byrne M, Agerbo E, Ewald H, Eaton WW, Mortensen PB (2003) Parental age and risk of schizophrenia: a case-control study. *Arch Gen Psychiatry* 60(7): 673-678.

Byrne M, Agerbo E, Bennedsen B, Eaton WW, Mortensen PB (2007) Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res* 97(1-3): 51-59.

Cadenhead KS, Swerdlow NR, Shafer KM, Diaz M, Braff DL (2000) Modulation of the startle response and startle laterality in relatives of schizophrenic patients and in subjects with schizotypal personality disorder: evidence of inhibitory deficits. *Am J Psychiatry* 157(10): 1660-1668.

Calkins ME, Curtis CE, Iacono WG, Grove WM (2004) Antisaccade performance is impaired in medically and psychiatrically healthy biological relatives of schizophrenia patients. *Schizophr Res* 71(1): 167-178.

Campbell DB, Ebert PJ, Skelly T, Stroup TS, Lieberman J, Levitt P, Sullivan PF (2008) Ethnic stratification of the association of RGS4 variants with antipsychotic treatment response in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 63(1): 32-41.

Cannon TD, Zorrilla LE, Shtasel D, Gur RE, Gur RC, Marco EJ, Moberg P, Price RA (1994) Neuropsychological functioning in siblings discordant for schizophrenia and healthy volunteers. *Arch Gen Psychiatry* 51(8): 651-661.

Cannon TD, van Erp TG, Huttunen M, Lönqvist J, Salonen O, Valanne L, Poutanen VP, Standertskjöld-Nordenstam CG, Gur RE, Yan M (1998) Regional gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid distributions in schizophrenic patients, their siblings, and controls. *Arch Gen Psychiatry* 55(12): 1084-1091.

Cannon M, Jones PB, Murray RM (2002) Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry* 159(7): 1080-1092.

Cantor-Graae E, Selten JP (2005) Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry* 162(1): 12-24.

Cardno AG, Gottesman II. (2000) Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet* 97: 12-17.

Cardno AG, Sham PC, Murray RM, McGuffin P (2001) Twin study of symptom dimensions in psychoses. *Br J Psychiatry* 179: 39-45.

Cardno AG, Sham PC, Farmer AE, Murray RM, McGuffin P (2002) Heritability of Schneider's first-rank symptoms. *Br J Psychiatry* 180: 35-38.

- Carlsson A, Lindqvist M (1963) Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 20: 140-144.
- Carlsson A (1967) Neurohumoral transmission and neuropsychiatric disorders. *Int J Psychiatry* 4(3): 218-219.
- Carpenter WT Jr, Heinrichs DW, Wagman AM (1988) Deficit and nondeficit forms of schizophrenia: the concept. *Am J Psychiatry* 145(5): 578-583.
- Caspi A, Moffitt TE (2006) Gene-environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. *Nat Rev Neurosci* 7(7): 583-590.
- Chabungbam G, Avasthi A, Sharan P (2007) Sociodemographic and clinical factors associated with relapse in schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 61(6): 587-593.
- Chan RC, Gottesman II (2008) Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: A shooting star or a Northern star? *Neurosci Biobehav Rev* 32(5): 957-971.
- Chen X, Dunham C, Kendler S, Wang X, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS (2004) Regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) gene is associated with schizophrenia in Irish high density families. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 129(1): 23-26.
- Chowdari KV, Mirnics K, Semwal P, Wood J, Lawrence E, Bhatia T, Deshpande SN, B K T, Ferrell RE, Middleton FA, Devlin B, Levitt P, Lewis DA, Nimgaonkar VL (2002) Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. *Hum Mol Genet* 11(12): 1373-1380.
- Chowdari KV, Bamne M, Wood J, Talkowski ME, Mirnics K, Levitt P, Lewis DA, Nimgaonkar VL (2008) Linkage Disequilibrium Patterns and Functional Analysis of RGS4 Polymorphisms in Relation to Schizophrenia. *Schizophr Bull* 34(1): 118-126.
- Cirillo MA, Seidman LJ (2003) Verbal declarative memory dysfunction in schizophrenia: from clinical assessment to genetics and brain mechanisms. *Neuropsychol Rev* 13(2): 43-77.

Clarke MC, Harley M, Cannon M (2006) The role of obstetric events in schizophrenia. *Schizophr Bull* 32(1): 3-8.

Clayton D (1999) A generalization of the transmission/disequilibrium test for uncertain-haplotype transmission. *Am J Hum Genet* 65(4): 1170-1177.

Clayton D, Jones H (1999) Transmission/disequilibrium tests for extended marker haplotypes. *Am J Hum Genet* 65(4): 1161-1169.

Clementz BA, Geyer MA, Braff DL (1998) Poor P50 suppression among schizophrenia patients and their first-degree biological relatives. *Am J Psychiatry* 155(12): 1691-1694.

Cloninger CR, Kaufmann CA, Faraone SV, Malaspina D, Svrakic DM, Harkavy-Friedman J, Suarez BK, Matisse TC, Shore D, Lee H, Hampe CL, Wynne D, Drain C, Markel PD, Zambuto CT, Schmitt K, Tsuang MT (1998) Genome-wide search for schizophrenia susceptibility loci: the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium. *Am J Med Genet* 81(4): 275-281.

Clow A, Theodorou A, Jenner P, Marsden CD (1980) Changes in rat striatal dopamine turnover and receptor activity during one years neuroleptic administration. *Eur J Pharmacol* 63(2-3): 135-144.

Coppola R (1999) *Working Memory Test V1.06.1*. Clinical Brain Disorder Branch, NIMH, Bethesda.

Cordeiro Q, Talkowski ME, Chowdari KV, Wood J, Nimgaonkar V, Vallada H (2005) Association and linkage analysis of RGS4 polymorphisms with schizophrenia and bipolar disorder in Brazil. *Genes Brain Behav* 4(1): 45-50.

Craddock N, Owen MJ (2005) The beginning of the end for the Kraepelinian dichotomy. *Br J Psychiatry* 186: 364-366.

Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ (2006) Genes for schizophrenia and bipolar disorder? Implications for psychiatric nosology. *Schizophr Bull* 32(1): 9-16.

Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ. (2007) Phenotypic and genetic complexity of psychosis. Invited commentary on Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles. *Br J Psychiatry* 190: 200-203.

Crow TJ (1985) The two-syndrome concept: origins and current status. *Schizophr Bull* 11(3): 471-486.

Crow TJ. Prenatal exposure to influenza as a cause of schizophrenia (1994) There are inconsistencies and contradictions in the evidence. *Br J Psychiatry* 164(5): 588-592.

Cutting J (2003) *Descriptive psychopathology*. In Hirsch SR & Weinberger DR (eds.) Schizophrenia. Oxford: Blackwell.

Cutting LP, Aakre JM, Docherty NM (2006) Schizophrenic patients' perceptions of stress, expressed emotion, and sensitivity to criticism. *Schizophr Bull* 32(4): 743-750.

Davidson LL, Heinrichs RW (2003) Quantification of frontal and temporal lobe brain-imaging findings in schizophrenia: a meta-analysis. *Psychiatry Res* 122(2): 69-87.

Davis KL, Kahn RS, Grant K, Davidson M (1991) Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* 148(11): 1474-1486.

Davydov IV, Varshavsky A (2000) RGS4 is arginylated and degraded by the N-end rule pathway in vitro. *J Biol Chem* 275(30): 22931-22941.

De Blasi A, Conn PJ, Pin J, Nicoletti F (2001) Molecular determinants of metabotropic glutamate receptor signaling. *Trends Pharmacol Sci* 22(3): 114-120.

De Vries L, Mousli M, Wurmser A, Farquhar MG (1995) GAIP, a protein that specifically interacts with the trimeric G protein G alpha i3, is a member of a protein family with a highly conserved core domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(25): 11916-11920.

De Vries L, Zheng B, Fischer T, Elenko E, Farquhar MG (2000) The regulator of G protein signaling family. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40: 235-271.

Degenhardt L, Hall W (2006) Is cannabis use a contributory cause of psychosis? *Can J Psychiatry* 51(9): 556-565.

Delawalla Z, Barch DM, Fisher Eastep JL, Thomason ES, Hanewinkel MJ, Thompson PA, Csernansky JG (2006) Factors mediating cognitive deficits and psychopathology among siblings of individuals with schizophrenia. *Schizophr Bull* 32(3): 525-537.

DeLisi LE, Szulc KU, Bertisch H, Majcher M, Brown K, Bappal A, Branch CA, Ardekani BA (2006) Early detection of schizophrenia by diffusion weighted imaging. *Psychiatry Res* 148(1): 61-66.

DeLisi LE (2008) The effect of cannabis on the brain: can it cause brain anomalies that lead to increased risk for schizophrenia? *Curr Opin Psychiatry* 21(2): 140-150.

DeLisi LE (2008) The Concept of Progressive Brain Change in Schizophrenia: Implications for Understanding Schizophrenia. *Schizophr Bull* 34(2): 312-321.

Díaz-Mataix L, Scorza MC, Bortolozzi A, Toth M, Celada P, Artigas F (2005) Involvement of 5-HT_{1A} receptors in prefrontal cortex in the modulation of dopaminergic activity: role in atypical antipsychotic action. *J Neurosci* 25(47): 10831-10843.

Dickinson D, Iannone VN, Wilk CM, Gold JM (2004) General and specific cognitive deficits in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 55(8): 826-833.

Dickinson D, Ragland JD, Calkins ME, Gold JM, Gur RC (2006) A comparison of cognitive structure in schizophrenia patients and healthy controls using confirmatory factor analysis. *Schizophr Res* 85(1-3): 20-29.

Ding L, Mychaleckyj JC, Hegde AN (2007) Full length cloning and expression analysis of splice variants of regulator of G-protein signaling RGS4 in human and murine brain. *Gene* 401(1-2): 46-60.

Ding L, Hegde AN. (2009) Expression of RGS4 splice variants in dorsolateral prefrontal cortex of schizophrenic and bipolar disorder patients. *Biol Psychiatry* 65(6): 541-545.

- Docherty NM, St-Hilaire A, Aakre JM, Seghers JP (2009) Life Events and High-Trait Reactivity Together Predict Psychotic Symptom Increases in Schizophrenia. *Schizophr Bull* 35(3): 638-645.
- Dohrenwend BP, Levav I, Shrout PE, Schwartz S, Naveh G, Link BG, Skodol AE, Stueve A (1992) Socioeconomic status and psychiatric disorders: the causation-selection issue. *Science* 255(5047): 946-952.
- Downes GB, Gautam N (1999) The G protein subunit gene families. *Genomics* 62(3): 544-552.
- Druey KM, Blumer KJ, Kang VH, Kehrl JH (1996) Inhibition of G-protein-mediated MAP kinase activation by a new mammalian gene family. *Nature* 379(6567): 742-746.
- Ebert T, Kotler M (2005) Prenatal exposure to influenza and the risk of subsequent development of schizophrenia. *Isr Med Assoc J* 7(1): 35-38.
- Ebert D, Loew T (2005) *Psychiatrie systematisch*. Bremen: Uni-Med.
- Edwards MJ (2007) Hyperthermia in utero due to maternal influenza is an environmental risk factor for schizophrenia. *Congenit Anom (Kyoto)* 47(3): 84-89.
- Emsley R, Chiliza B, Schoeman R (2008) Predictors of long-term outcome in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 21(2): 173-177.
- Erdely HA, Lahti RA, Lopez MB, Myers CS, Roberts RC, Tamminga CA, Vogel MW (2004) Regional expression of RGS4 mRNA in human brain. *Eur J Neurosci* 19(11): 3125-3128.
- Erdely HA, Tamminga CA, Roberts RC, Vogel MW (2006) Regional alterations in RGS4 protein in schizophrenia. *Synapse* 59(8): 472-479.
- Ettinger U, Kumari V, Crawford TJ, Corr PJ, Das M, Zachariah E, Hughes C, Sumich AL, Rabe-Hesketh S, Sharma T (2004) Smooth pursuit and antisaccade eye movements in siblings discordant for schizophrenia. *J Psychiatr Res* 38(2): 177-184.

Ettinger U, Picchioni M, Hall MH, Schulze K, Toulopoulou T, Landau S, Crawford TJ, Murray RM (2006) Antisaccade performance in monozygotic twins discordant for schizophrenia: the Maudsley twin study. *Am J Psychiatry* 163(3): 543-545.

Falk CT, Rubinstein P (1987) Haplotype relative risks: an easy reliable way to construct a proper control sample for risk calculations. *Ann Hum Genet* 51(Pt 3): 227-233.

Fallin MD, Lasseter VK, Avramopoulos D, Nicodemus KK, Wolyniec PS, McGrath JA, Steel G, Nestadt G, Liang KY, Haganir RL, Valle D, Pulver AE (2005) Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios. *Am J Hum Genet* 77(6): 918-936.

Faraone SV, Seidman LJ, Kremen WS, Pepple JR, Lyons MJ, Tsuang MT (1995) Neuropsychological functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: a diagnostic efficiency analysis. *J Abnorm Psychol* 104(2): 286-304.

Faraone SV, Seidman LJ, Kremen WS, Toomey R, Pepple JR, Tsuang MT (1999) Neuropsychological functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: a 4-year follow-up study. *J Abnorm Psychol* 108(1): 176-181.

Faraone SV, Seidman LJ, Kremen WS, Toomey R, Pepple JR, Tsuang MT (2000) Neuropsychologic functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: the effect of genetic loading. *Biol Psychiatry* 48(2): 120-126.

Farde L, Wiesel FA, Stone-Elander S, Halldin C, Nordström AL, Hall H, Sedvall G (1990) D2 dopamine receptors in neuroleptic-naïve schizophrenic patients. A positron emission tomography study with [¹¹C]raclopride. *Arch Gen Psychiatry* 47: 213-219.

Finkel D, Pedersen NL, McGue M, McClearn GE (1995) Heritability of cognitive abilities in adult twins: comparison of Minnesota and Swedish data. *Behav Genet* 25(5): 421-431.

Franzek E, Beckmann H (1996) Die genetische Heterogenität der Schizophrenie. Ergebnisse einer systematischen Zwillingsstudie. *Nervenarzt* 67: 583-594.

Fredriksson R, Lagerström MC, Lundin LG, Schiöth HB (2003) The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Mol Pharmacol* 63(6): 1256-1272.

Gevins A, Smith ME, Le J, Leong H, Bennett J, Martin N, McEvoy L, Du R, Whitfield S. (1996) High resolution evoked potential imaging of the cortical dynamics of human working memory. , *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 98(4): 327-348.

Ghavami A, Hunt RA, Olsen MA, Zhang J, Smith DL, Kalgaonkar S, Rahman Z, Young KH (2004) Differential effects of regulator of G protein signaling (RGS) proteins on serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, and dopamine D₂ receptor-mediated signaling and adenylyl cyclase activity. *Cell Signal* 16(6): 711-721.

Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT (2003) Association between a functional catechol O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: meta-analysis of case-control and family-based studies. *Am J Psychiatry* 160(3): 469-476.

Gold JM, Randolph C, Carpenter CJ, Goldberg TE, Weinberger DR (1992) Forms of memory failure in schizophrenia. *J Abnorm Psychol* 101(3): 487-494.

Gold SJ, Ni YG, Dohlman HG, Nestler EJ (1997) Regulators of G-protein signaling (RGS) proteins: region-specific expression of nine subtypes in rat brain. *J Neurosci* 17(20): 8024-8037.

Gold SJ, Han MH, Herman AE, Ni YG, Pudiak CM, Aghajanian GK, Liu RJ, Potts BW, Mumby SM, Nestler EJ (2003) Regulation of RGS proteins by chronic morphine in rat locus coeruleus. *Eur J Neurosci* 17(5): 971-980.

Gold JM (2004) Cognitive deficits as treatment targets in schizophrenia. *Schizophr Res* 72(1): 21-28.

Goldstein G (1990) Neuropsychological heterogeneity in schizophrenia: a consideration of abstraction and problem-solving abilities. *Arch Clin Neuropsychol* 5(3): 251-264.

Goldstein G, Shemansky WJ (1995) Influences on cognitive heterogeneity in schizophrenia. *Schizophr Res* 18(1): 59-69.

Goldstein G, Allen DN, Seaton BE (1998) A comparison of clustering solutions for cognitive heterogeneity in schizophrenia. *J Int Neuropsychol Soc* 4(4): 353-362.

Gottesman II, Shields J (1972) *Schizophrenia and Genetics: A Twin Study Vantage Point*. New York, NY: Academic Press Inc.

Gottesman II, Shields J (1982) *Schizophrenia: The Epigenetic Puzzle*. Cambridge: Cambridge University Press.

Gottesman II, McGuffin P, Farmer AE (1987) Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophr Bull* 13(1): 23-47.

Gottesman II (1991) The origins of madness. In *Schizophrenia Genesis*. New York: W.H. Freeman.

Gottesman II, Gould TD (2003) The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry* 160(4): 636-645.

Gouzoulis-Mayfrank E, Heekeren K, Neukirch A, Stoll M, Stock C, Obradovic M, Kovar KA (2005) Psychological effects of (S)-ketamine and N,N-dimethyltryptamine (DMT): a double-blind, cross-over study in healthy volunteers. *Pharmacopsychiatry* 38(6): 301-311.

Green MF, Nuechterlein KH, Gold JM, Barch DM, Cohen J, Essock S, Fenton WS, Frese F, Goldberg TE, Heaton RK, Keefe RS, Kern RS, Kraemer H, Stover E, Weinberger DR, Zalcman S, Marder SR (2004) Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria. *Biol Psychiatry* 56(5): 301-307.

- Guo S, Tang W, Shi Y, Huang K, Xi Z, Xu Y, Feng G, He L (2006) RGS4 polymorphisms and risk of schizophrenia: an association study in Han Chinese plus meta-analysis. *Neurosci Lett* 406(1-2): 122-127.
- Gur RE, Calkins ME, Gur RC, Horan WP, Nuechterlein KH, Seidman LJ, Stone WS (2007) The Consortium on the Genetics of Schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophr Bull* 33(1): 49-68.
- Häfner H (2003) Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 28 (Suppl 2): 17-54.
- Häfner H, an der Heiden W (2003) *Course and outcome of schizophrenia*. In Hirsch SR, Weinberger DR (eds) *Schizophrenia*. Massachusetts, Oxford, Victoria, Berlin: Blackwell Science.
- Hahn CG, Wang HY, Cho DS, Talbot K, Gur RE, Berrettini WH, Bakshi K, Kamins J, Borgmann-Winter KE, Siegel SJ, Gallop RJ, Arnold SE (2006) Altered neuregulin 1-erbB4 signaling contributes to NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Nat Med* 12(7): 824-828.
- Hamilton SP (2008) Schizophrenia candidate genes: are we really coming up blank? *Am J Psychiatry* 165(4): 420-423.
- Harrison PJ (1999) The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* 122(4): 593-624.
- Harrison PJ (2004) The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacology (Berl)* 174(1): 151-162.
- Harrison PJ, Weinberger DR (2005) Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry* 10(1): 40-68.

Harrison PJ, Law AJ (2006) Neuregulin 1 and schizophrenia: genetics, gene expression, and neurobiology. *Biol Psychiatry* 60(2): 132-140.

Härting C, Markowitsch HJ, Neufeld H, Calabrese P, Deisinger K, Kessler J (2000). *Wechsler Gedächtnistest; Revidierte Fassung. WMS-R*. Bern: Huber.

Harvey PD, Green MF, McGurk SR, Meltzer HY (2003) Changes in cognitive functioning with risperidone and olanzapine treatment: a large-scale, double-blind, randomized study. *Psychopharmacology (Berl)* 169: 404-411.

Harvey PD, Palmer BW, Heaton RK, Mohamed S, Kennedy J, Brickman A (2005) Stability of cognitive performance in older patients with schizophrenia: an 8-week test-retest study. *Am J Psychiatry* 162(1): 110-117.

Hashimoto R, Straub RE, Weickert CS, Hyde TM, Kleinman JE, Weinberger DR (2004) Expression analysis of neuregulin-1 in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 9(3): 299-307.

Heaton RK, Gladsjo JA, Palmer BW, Kuck J, Marcotte TD, Jeste DV (2001) Stability and course of neuropsychological deficits in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 58(1): 24-32.

Heaton RK (2003) *Wisconsin Card Sorting Test: Computer Version 4 – Research Edition*. Florida: Psychological Assessment Resources.

Hegarty JD, Baldessarini RJ, Tohen M, Waternaux C, Oepen G (1994) One hundred years of schizophrenia: a meta-analysis of the outcome literature. *Am J Psychiatry* 151(10): 1409-1416.

Heinrichs RW, Awad AG (1993) Neurocognitive subtypes of chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 9(1): 49-58.

Heinrichs RW, Ruttan L, Zakzanis KK, Case D (1997) Parsing schizophrenia with neurocognitive tests: evidence of stability and validity. *Brain Cogn* 35(2): 207-224.

Heinrichs RW, Zakzanis KK (1998) Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12(3): 426-445.

Heinrichs RW (2005) The primacy of cognition in schizophrenia. *Am Psychol* 60(3): 229-242.

Helmstaedter C, Lendt M, Lux S (2001) *Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest*. Göttingen: Beltz.

Hepler JR, Berman DM, Gilman AG, Kozasa T (1997) RGS4 and GAIP are GTPase-activating proteins for Gq alpha and block activation of phospholipase C beta by gamma-thio-GTP-Gq alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(2): 428-432.

Hill SK, Harris MS, Herbener ES, Pavuluri M, Sweeney JA (2008) Neurocognitive allied phenotypes for schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Bull* 34(4): 743-759.

Ho BC, Andreasen NC, Nopoulos P, Arndt S, Magnotta V, Flaum M (2003) Progressive structural brain abnormalities and their relationship to clinical outcome: a longitudinal magnetic resonance imaging study early in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 60(6): 585-594.

Hollinger S, Hepler JR (2002) Cellular regulation of RGS proteins: modulators and integrators of G protein signaling. *Pharmacol Rev* 54(3): 527-559.

Holthausen EA, Wiersma D, Sitskoorn MM, Hijman R, Dingemans PM, Schene AH, van den Bosch RJ (2002) Schizophrenic patients without neuropsychological deficits: subgroup, disease severity or cognitive compensation? *Psychiatry Res* 112(1): 1-11.

Honea R, Crow TJ, Passingham D, Mackay CE (2005) Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Am J Psychiatry* 162(12): 2233-2245.

Hooks SB, Martemyanov K, Zachariou V (2008) A role of RGS proteins in drug addiction. *Biochem Pharmacol* 75(1): 76-84.

Hooley JM (2007) Expressed emotion and relapse of psychopathology. *Annu Rev Clin Psychol* 3: 329-352.

Horan WP, Goldstein G (2003) A retrospective study of premorbid ability and aging differences in cognitive clusters of schizophrenia. *Psychiatry Res* 118(3): 209-221.

Horan WP, Ventura J, Nuechterlein KH, Subotnik KL, Hwang SS, Mintz J (2005) Stressful life events in recent-onset schizophrenia: reduced frequencies and altered subjective appraisals. *Schizophr Res* 75(2-3): 363-374.

Huang C, Hepler JR, Gilman AG, Mumby SM (1997) Attenuation of Gi- and Gq-mediated signaling by expression of RGS4 or GAIP in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(12): 6159-6163.

Hultman CM, Ohman A, Cnattingius S, Wieselgren IM, Lindström LH (1997) Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *Br J Psychiatry* 170: 128-133.

Ichikawa J, Ishii H, Bonaccorso S, Fowler WL, O'Laughlin IA, Meltzer HY (2001) 5-HT(2A) and D(2) receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT(1A) receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release. *J Neurochem* 76(5): 1521-1531.

Ingi T, Aoki Y (2002) Expression of RGS2, RGS4 and RGS7 in the developing postnatal brain. *Eur J Neurosci* 15(5): 929-936.

Ingraham LJ, Kety SS (2000) Adoption studies of schizophrenia. *Am J Med Genet* 97(1): 18-22.

International Schizophrenia Consortium (2008) Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature* 455(7210): 237-241.

International Schizophrenia Consortium, Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, Sklar P (2009) Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 460(7256): 748-752.

Ishiguro H, Horiuchi Y, Koga M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Muratake T, Someya T, Arinami T (2007) RGS4 is not a susceptibility gene for schizophrenia in Japanese: association study in a large case-control population. *Schizophr Res* 89(1-3): 161-164.

Jablensky A (2000) Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 250(6): 274-285.

Javitt DC (2006) Is the glycine site half saturated or half unsaturated? Effects of glutamatergic drugs in schizophrenia patients. *Curr Opin Psychiatry* 19(2): 151-157.

Johnson JK, Tuulio-Henriksson A, Pirkola T, Huttunen MO, Lönnqvist J, Kaprio J, Cannon TD (2003) Do schizotypal symptoms mediate the relationship between genetic risk for schizophrenia and impaired neuropsychological performance in co-twins of schizophrenic patients? *Biol Psychiatry* 54(11): 1200-1204.

Joyce E (2005) Origins of cognitive dysfunction in schizophrenia: clues from age at onset. *Br J Psychiatry* 186: 93-95.

Joyce EM, Hutton SB, Mutsatsa SH, Barnes TR (2005) Cognitive heterogeneity in first-episode schizophrenia. *Br J Psychiatry* 187: 516-522.

Joyce EM, Roiser JP (2007) Cognitive heterogeneity in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 20(3): 268-272.

Kampman O, Illi A, Hänninen K, Katila H, Anttila S, Rontu R, Mattila KM, Leinonen E, Lehtimäki T (2006) RGS4 genotype is not associated with antipsychotic medication response in schizophrenia. *J Neural Transm* 113(10): 1563-1568.

Kapur S, Remington G (1996) Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *Am J Psychiatry* 153(4): 466-476.

Kapur S, Remington G, Jones C, Wilson A, DaSilva J, Houle S, Zipursky R (1996) High levels of dopamine D2 receptor occupancy with low-dose haloperidol treatment: a PET study. *Am J Psychiatry* 153(7): 948-950.

Kay SR, Fiszbein A, Opler LA (1987) The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 13(2): 261-276.

Keefe RS, Seidman LJ, Christensen BK, Hamer RM, Sharma T, Sitskoorn MM, Rock SL, Woolson S, Tohen M, Tollefson GD, Sanger TM, Lieberman JA; HGDH Research Group (2006) Long-term neurocognitive effects of olanzapine or low-dose haloperidol in first-episode psychosis. *Biol Psychiatry* 59(2): 97-105.

Kendler KS, Tsuang MT, Hays P (1987) Age at onset in schizophrenia. A familial perspective. *Arch Gen Psychiatry* 44(10): 881-890.

Kendler KS (2001) Twin studies of psychiatric illness: an update. *Arch Gen Psychiatry* 58: 1005-1014.

Kessler J, Folstein, SE, Denzler P (1990) *MMST. Mini-Mental-Status-Test*. Deutschsprachige Fassung. Weinheim: Beltz.

Kety SS (1988) Schizophrenic illness in the families of schizophrenic adoptees: findings from the Danish national sample. *Schizophr Bull* 14(2): 217-222.

Kety SS, Wender PH, Jacobsen B, Ingraham LJ, Jansson L, Faber B, Kinney DK (1994) Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Arch Gen Psychiatry* 51(6): 442-455.

Kimple RJ, De Vries L, Tronchère H, Behe CI, Morris RA, Gist Farquhar M, Siderovski DP (2001) RGS12 and RGS14 GoLoco motifs are G alpha(i) interaction sites with guanine nucleotide dissociation inhibitor Activity. *J Biol Chem* 276(31): 29275-29281.

Kinney DK, Levy DL, Yurgelun-Todd DA, Tramer SJ, Holzman PS (1998) Inverse relationship of perinatal complications and eye tracking dysfunction in relatives of patients with schizophrenia: evidence for a two-factor model. *Am J Psychiatry* 155(7): 976-978.

Kirkbride JB, Fearon P, Morgan C, Dazzan P, Morgan K, Tarrant J, Lloyd T, Holloway J, Hutchinson G, Leff JP, Mallett RM, Harrison GL, Murray RM, Jones PB (2006) Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center AeSOP study. *Arch Gen Psychiatry* 63(3): 250-258.

Kirkpatrick B, Buchanan RW, McKenney PD, Alphas LD, Carpenter WT Jr (1989) The Schedule for the Deficit syndrome: an instrument for research in schizophrenia. *Psychiatry Res* 30(2): 119-123.

Kirov G, Gumus D, Chen W, Norton N, Georgieva L, Sari M, O'Donovan MC, Erdogan F, Owen MJ, Ropers HH, Ullmann R (2008) Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Hum Mol Genet* 17(3): 458-465.

Kirov G, Zaharieva I, Georgieva L, Moskvina V, Nikolov I, Cichon S, Hillmer A, Toncheva D, Owen MJ, O'Donovan MC (2009) A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling. *Mol Psychiatry* 14(8): 796-803.

Koelle MR, Horvitz HR (1996) EGL-10 regulates G protein signaling in the *C. elegans* nervous system and shares a conserved domain with many mammalian proteins. *Cell* 84(1): 115-125.

Kolakowski LF Jr (1994) GCRDb: a G-protein-coupled receptor database. *Receptors Channels* 2(1): 1-7.

Krabbendam L, van Os J (2005) Schizophrenia and urbanicity: a major environmental influence--conditional on genetic risk. *Schizophr Bull* 31(4): 795-799.

Kremen WS, Seidman LJ, Faraone SV, Toomey R, Tsuang MT (2000) The paradox of normal neuropsychological function in schizophrenia. *J Abnorm Psychol* 109(4): 743-752.

Kremen WS, Seidman LJ, Faraone SV, Toomey R, Tsuang MT (2004) Heterogeneity of schizophrenia: a study of individual neuropsychological profiles. *Schizophr Res* 71(2-3): 307-321.

Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB Jr, Charney DS (1994) Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 51(3): 199-214.

Kumari V, Das M, Zachariah E, Ettinger U, Sharma T (2005) Reduced prepulse inhibition in unaffected siblings of schizophrenia patients. *Psychophysiology* 42(5): 588-594.

Laird NM, Horvath S, Xu X (2000) Implementing a unified approach to family-based tests of association. *Genet Epidemiol* 19 Suppl 1: S36-42.

Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, FitzHugh W, Funke R, Gage D, Harris K, Heaford A, Howland J, Kann L, Lehoczy J, LeVine R, McEwan P, McKernan K, Meldrim J, Mesirov JP, Miranda C, Morris W, Naylor J, Raymond C, Rosetti M, Santos R, Sheridan A, Sougnez C, Stange-Thomann N, Stojanovic N, Subramanian A, Wyman D, Rogers J, Sulston J, Ainscough R, Beck S, Bentley D, Burton J, Clee C, Carter N, Coulson A, Deadman R, Deloukas P, Dunham A, Dunham I, Durbin R, French L, Grafham D, Gregory S, Hubbard T, Humphray S, Hunt A, Jones M, Lloyd C, McMurray A, Matthews L, Mercer S, Milne S, Mullikin JC, Mungall A, Plumb R, Ross M, Shownkeen R, Sims S, Waterston RH, Wilson RK, Hillier LW, McPherson JD, Marra MA, Mardis ER, Fulton LA, Chinwalla AT, Pepin KH, Gish WR, Chissole SL, Wendl MC, Delehaunty KD, Miner TL, Delehaunty A, Kramer JB, Cook LL, Fulton RS, Johnson DL, Minx PJ, Clifton SW, Hawkins T, Branscomb E, Predki P, Richardson P, Wenning S, Slezak T, Doggett N, Cheng JF, Olsen A, Lucas S, Elkin C, Uberbacher E, Frazier M, Gibbs RA, Muzny DM, Scherer SE, Bouck JB, Sodergren EJ, Worley KC, Rives CM, Gorrell JH, Metzker ML, Naylor SL, Kucherlapati RS, Nelson DL, Weinstock GM, Sakaki Y, Fujiyama A, Hattori M, Yada T, Toyoda A, Itoh T, Kawagoe C, Watanabe H, Totoki Y, Taylor T, Weissenbach J, Heilig R, Saurin W, Artiguenave F, Brottier P, Bruls T, Pelletier E, Robert C, Wincker P, Smith DR, Doucette-Stamm L, Rubenfield M, Weinstock K, Lee HM, Dubois J, Rosenthal A, Platzer M, Nyakatura G, Taudien S, Rump A, Yang H, Yu J, Wang J, Huang G, Gu J, Hood L, Rowen L, Madan A, Qin S, Davis RW, Federspiel NA, Abola AP, Proctor MJ, Myers RM, Schmutz J, Dickson M, Grimwood J, Cox DR, Olson MV, Kaul R, Raymond C, Shimizu N, Kawasaki K, Minoshima S, Evans GA, Athanasiou M, Schultz R, Roe BA, Chen F, Pan H, Ramser J, Lehrach H, Reinhardt R, McCombie WR, de la Bastide M, Dedhia N,

Blöcker H, Hornischer K, Nordsiek G, Agarwala R, Aravind L, Bailey JA, Bateman A, Batzoglou S, Birney E, Bork P, Brown DG, Burge CB, Cerutti L, Chen HC, Church D, Clamp M, Copley RR, Doerks T, Eddy SR, Eichler EE, Furey TS, Galagan J, Gilbert JG, Harmon C, Hayashizaki Y, Haussler D, Hermjakob H, Hokamp K, Jang W, Johnson LS, Jones TA, Kasif S, Kasprzyk A, Kennedy S, Kent WJ, Kitts P, Koonin EV, Korf I, Kulp D, Lancet D, Lowe TM, McLysaght A, Mikkelsen T, Moran JV, Mulder N, Pollara VJ, Ponting CP, Schuler G, Schultz J, Slater G, Smit AF, Stupka E, Szustakowski J, Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J, Wagner L, Wallis J, Wheeler R, Williams A, Wolf YI, Wolfe KH, Yang SP, Yeh RF, Collins F, Guyer MS, Peterson J, Felsenfeld A, Wetterstrand KA, Patrinos A, Morgan MJ, de Jong P, Catanese JJ, Osoegawa K, Shizuya H, Choi S, Chen YJ; International Human Genome Sequencing Consortium. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409(6822): 860-921.

Lane HY, Liu YC, Huang CL, Chang YC, Wu PL, Huang CH, Tsai GE (2008) RGS4 polymorphisms predict clinical manifestations and responses to risperidone treatment in patients with schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 28(1): 64-68.

Lang UE, Puls I, Muller DJ, Strutz-Seebohm N, Gallinat J (2007) Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem* 20(6): 687-702.

Larminie C, Murdock P, Walhin JP, Duckworth M, Blumer KJ, Scheideler MA, Garnier M (2004) Selective expression of regulators of G-protein signaling (RGS) in the human central nervous system. *Brain Res Mol Brain Res* 122(1): 24-34.

Laruelle M, Abi-Dargham A, Casanova MF, Toti R, Weinberger DR, Kleinman JE (1993) Selective abnormalities of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia. A postmortem study. *Arch Gen Psychiatry* 50(10): 810-818.

Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS, Baldwin RM, Seibyl JP, Krystal JH, Charney DS, Innis RB (1996) Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(17): 9235-9240.

Laruelle M (1998) Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Q J Nucl Med* 42: 211-221.

Law AJ, Lipska BK, Weickert CS, Hyde TM, Straub RE, Hashimoto R, Harrison PJ, Kleinman JE, Weinberger DR. (2006) Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(17): 6747-6752.

Lawrie SM, Abukmeil SS (1998) Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry* 172: 110-120.

Lee MJ, Tasaki T, Moroi K, An JY, Kimura S, Davydov IV, Kwon YT (2005) RGS4 and RGS5 are in vivo substrates of the N-end rule pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(42): 15030-15035.

Lencz T, Morgan TV, Athanasiou M, Dain B, Reed CR, Kane JM, Kucherlapati R, Malhotra AK (2007) Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 12(6): 572-580.

Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lönngqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zoëga T, Helgason T (2003) Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 73(1): 34-48.

Li D, He L (2006) Association study of the G-protein signaling 4 (RGS4) and proline dehydrogenase (PRODH) genes with schizophrenia: a meta-analysis. *Eur J Hum Genet* 14(10): 1130-1135.

- Liang D, Seyfried TN (2001) Genes differentially expressed in the kindled mouse brain. *Brain Res Mol Brain Res* 96(1-2): 94-102.
- Limosin F, Rouillon F, Payan C, Cohen JM, Strub N (2003) Prenatal exposure to influenza as a risk factor for adult schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 107(5): 331-335.
- Lipska BK, Chrapusta SJ, Egan MF, Weinberger DR (1995) Neonatal excitotoxic ventral hippocampal damage alters dopamine response to mild repeated stress and to chronic haloperidol. *Synapse* 20(2): 125-130.
- Lipska BK, Mitkus S, Caruso M, Hyde TM, Chen J, Vakkalanka R, Straub RE, Weinberger DR, Kleinman JE (2006) RGS4 mRNA expression in postmortem human cortex is associated with COMT Val158Met genotype and COMT enzyme activity. *Hum Mol Genet* 15(18): 2804-2812.
- Liu YL, Shen-Jang Fann C, Liu CM, Wu JY, Hung SI, Chan HY, Chen JJ, Lin CY, Liu SK, Hsieh MH, Hwang TJ, Ouyang WC, Chen CY, Lin JJ, Chou FH, Chueh CM, Liu WM, Tsuang MM, Faraone SV, Tsuang MT, Chen WJ, Hwu HG (2006) Evaluation of RGS4 as a candidate gene for schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 141(4): 418-420.
- Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M, Lander ES, Hirschhorn JN (2003) Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet* 33(2): 177-182.
- Luttrell LM (2006) Transmembrane signaling by G protein-coupled receptors. *Methods Mol Biol* 332: 3-49.
- Lymer GK, Job DE, William T, Moorhead J, McIntosh AM, Owens DG, Johnstone EC, Lawrie SM (2006) Brain-behaviour relationships in people at high genetic risk of schizophrenia. *Neuroimage* 33(1): 275-285.
- Mackay AV, Bird ED, Iversen LL, Spokes EG, Creese I, Snyder SH (1980a) Dopaminergic abnormalities in postmortem schizophrenic brain. *Adv Biochem Psychopharmacol* 24: 325-333.

Mackay AV, Bird ED, Spokes EG, Rossor M, Iversen LL, Creese I, Snyder SH (1980b) Dopamine receptors and schizophrenia: drug effect or illness? *Lancet* 2: 915-916.

Mah S, Nelson MR, Delisi LE, Reneland RH, Markward N, James MR, Nyholt DR, Hayward N, Handoko H, Mowry B, Kammerer S, Braun A (2006) Identification of the semaphorin receptor PLXNA2 as a candidate for susceptibility to schizophrenia. *Mol Psychiatry* 11(5): 471-478.

Malaspina D, Harlap S, Fennig S, Heiman D, Nahon D, Feldman D, Susser ES (2001) Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 58(4): 361-367.

Marcelis M, Suckling J, Woodruff P, Hofman P, Bullmore E, van Os J (2003) Searching for a structural endophenotype in psychosis using computational morphometry. *Psychiatry Res* 122(3): 153-167.

Markowitsch, H.-J. (2002): *Dem Gedächtnis auf der Spur. Vom Erinnern und Vergessen*. Darmstadt: Wissenschaftliche Buchgesellschaft.

Martin ER, Monks SA, Warren LL, Kaplan NL (2000) A test for linkage and association in general pedigrees: the pedigree disequilibrium test. *Am J Hum Genet* 67(1): 146-154.

Martinot JL, Paillère-Martinot ML, Loc'h C, Hardy P, Poirier MF, Mazoyer B, Beauvils B, Mazière B, Allilaire JF, Syrota A (1991) The estimated density of D2 striatal receptors in schizophrenia. A study with positron emission tomography and ⁷⁶Br-bromolisuride. *Br J Psychiatry* 158: 346-350.

McCarley RW, Wible CG, Frumin M, Hirayasu Y, Levitt JJ, Fischer IA, Shenton ME (1999) MRI anatomy of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 45(9): 1099-1119.

McDonald C, Bullmore ET, Sham PC, Chitnis X, Wickham H, Bramon E, Murray RM (2004) Association of genetic risks for schizophrenia and bipolar disorder with specific and generic brain structural endophenotypes. *Arch Gen Psychiatry* 61(10): 974-984.

McGrath J, Saha S, Welham J, El Saadi O, MacCauley C, Chant D (2004) A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC Med* 2: 13.

McNeil TF, Cantor-Graae E, Weinberger DR (2000) Relationship of obstetric complications and differences in size of brain structures in monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157(2): 203-212.

Mednick SA, Machon RA, Huttunen MO, Bonett D (1988) Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic. *Arch Gen Psychiatry* 45(2): 189-192.

Meltzer HY (1987) Biological studies in schizophrenia. *Schizophr Bull* 13(1): 77-111.

Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR (2006) Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 7(10): 818-827.

Miller GA (1956) The magical number seven plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychol Rev* 63(2): 81-97.

Mirnics K, Middleton FA, Stanwood GD, Lewis DA, Levitt P (2001) Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 6(3): 293-301.

Möller H-J, Deister A (2000) *Schizophrenie*. In Möller H-J, Laux G, Kapfhammer HP (eds) *Psychiatrie und Psychotherapie*. Berlin-Heidelberg: Springer.

Möller H-J (2005) *Schizophrenie*. In Möller H-J, Laux G, Deister A (eds) *Psychiatrie und Psychotherapie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Moore TH, Zammit S, Lingford-Hughes A, Barnes TR, Jones PB, Burke M, Lewis G (2007) Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet* 370(9584): 319-328.

Morris DW, Rodgers A, McGhee KA, Schwaiger S, Scully P, Quinn J, Meagher D, Waddington JL, Gill M, Corvin AP (2004) Confirming RGS4 as a susceptibility gene for schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 125(1): 50-53.

Mortensen PB, Pedersen CB, Westergaard T, Wohlfahrt J, Ewald H, Mors O, Andersen PK, Melbye M (1999) Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N Engl J Med* 340(8): 603-608.

Murphy KC, Jones LA, Owen MJ (1999) High rates of schizophrenia in adults with velocardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 56(10): 940-945.

Myles-Worsley M (2002) P50 sensory gating in multiplex schizophrenia families from a Pacific island isolate. *Am J Psychiatry* 159(12): 2007-2012.

Narr KL, van Erp TG, Cannon TD, Woods RP, Thompson PM, Jang S, Blanton R, Poutanen VP, Huttunen M, Lönngqvist J, Standerskjöld-Nordenstam CG, Kaprio J, Mazziotta JC, Toga AW (2002) A twin study of genetic contributions to hippocampal morphology in schizophrenia. *Neurobiol Dis* 11(1): 83-95.

Nelson MD, Saykin AJ, Flashman LA, Riordan HJ (1998) Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. *Arch Gen Psychiatry* 55(5): 433-440.

Ng MY, Levinson DF, Faraone SV, Suarez BK, Delisi LE, Arinami T, Riley B, Paunio T, Pulver AE, Irmansyah, Holmans PA, Escamilla M, Wildenauer DB, Williams NM, Laurent C, Mowry BJ, Brzustowicz LM, Maziade M, Sklar P, Garver DL, Abecasis GR, Lerer B, Fallin MD, Gurling HM, Gejman PV, Lindholm E, Moises HW, Byerley W, Wijsman EM, Forabosco P, Tsuang MT, Hwu HG, Okazaki Y, Kendler KS, Wormley B, Fanous A, Walsh D, O'Neill FA, Peltonen L, Nestadt G, Lasseter VK, Liang KY, Papadimitriou GM, Dikeos DG, Schwab SG, Owen MJ, O'Donovan MC, Norton N, Hare E, Raventos H, Nicolini H, Albus M, Maier W, Nimgaonkar VL, Terenius L, Mallet J, Jay M, Godard S, Nertney D, Alexander M, Crowe RR, Silverman JM, Bassett AS, Roy MA, Mérette C, Mérette C, Pato CN, Pato MT, Louw Roos J, Mérette C, Kohn Y, Amann-Zalcenstein D, Kalsi G, McQuillin A, Curtis D, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Sanders AR, Duan J, Jazin E,

Myles-Worsley M, Karayiorgou M, Lewis CM (2009) Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 14(8): 774-785.

Ni YG, Gold SJ, Iredale PA, Terwilliger RZ, Duman RS, Nestler EJ (1999) Region-specific regulation of RGS4 (Regulator of G-protein-signaling protein type 4) in brain by stress and glucocorticoids: in vivo and in vitro studies. *J Neurosci* 19(10): 3674-3680.

Nicolson R, Rapoport JL (1999) Childhood-onset schizophrenia: rare but worth studying. *Biol Psychiatry* 46(10): 1418-1428.

Niebuhr DW, Millikan AM, Cowan DN, Yolken R, Li Y, Weber NS (2008) Selected infectious agents and risk of schizophrenia among U.S. military personnel. *Am J Psychiatry* 165(1): 99-106.

Norton N, Williams HJ, Owen MJ (2006) An update on the genetics of schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 19(2): 158-164.

Nuechterlein KH, Asarnow RF (2004) *3-7 Continuous Performance Test*. Los Angeles: University of California.

Nuechterlein KH, Barch DM, Gold JM, Goldberg TE, Green MF, Heaton RK (2004) Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophr Res* 72(1): 29-39.

O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC, Howie B, Leung HT, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Williams NM, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Gejman PV; Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration, Gejman PV, Sanders AR, Duan J, Levinson DF, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Cloninger CR, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ (2008) Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet* 40(9): 1053-1055.

O'Driscoll GA, Florencio PS, Gagnon D, Wolff AV, Benkelfat C, Mikula L, Lal S, Evans AC (2001) Amygdala-hippocampal volume and verbal memory in first-degree relatives of schizophrenic patients. *Psychiatry Res* 107(2): 75-85.

Olney JW, Labruyere J, Wang G, Wozniak DF, Price MT, Sesma MA (1991) NMDA antagonist neurotoxicity: mechanism and prevention. *Science* 254: 1515-1518.

Olney JW, Farber NB (1995) Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 52(12): 998-1007.

Olney JW, Newcomer JW, Farber NB (1999) NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. *J Psychiatr Res* 33(6): 523-533.

Olsen L, Hansen T, Jakobsen KD, Djurovic S, Melle I, Agartz I, Hall H, Ullum H, Timm S, Wang AG, Jönsson EG, Andreassen OA, Werge T (2008) The estrogen hypothesis of schizophrenia implicates glucose metabolism: association study in three independent samples. *BMC Med Genet* 6: 9-39.

Oswald WD, Roth E (1987) *Der Zahlen-Verbindungs-Test (ZVT)*. Göttingen: Hogrefe.

Owen MJ (2000) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* 31(2-3): 179-186.

Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC (2004) The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry* 9(1): 14-27.

Owen MJ, Craddock N, O'Donovan MC (2005) Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet* 21(9): 518-525.

Owen MJ, Williams HJ, O'Donovan MC (2009) Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr Opin Genet Dev* 19(3): 266-270.

Pakkenberg B (1993) Total nerve cell number in neocortex in chronic schizophrenics and controls estimated using optical disectors. *Biol Psychiatry* 34(11): 768-772.

Palmer BW, Heaton RK, Paulsen JS, Kuck J, Braff D, Harris MJ, Zisook S, Jeste DV (1997) Is it possible to be schizophrenic yet neuropsychologically normal? *Neuropsychology* 11(3): 437-446.

Pantelis C, Yücel M, Wood SJ, Velakoulis D, Sun D, Berger G, Stuart GW, Yung A, Phillips L, McGorry PD (2005) Structural brain imaging evidence for multiple pathological processes at different stages of brain development in schizophrenia. *Schizophr Bull* 31(3): 672-696.

Parsey RV, Oquendo MA, Zea-Ponce Y, Rodenhiser J, Kegeles LS, Pratap M, Cooper TB, Van Heertum R, Mann JJ, Laruelle M (2001) Dopamine D(2) receptor availability and amphetamine-induced dopamine release in unipolar depression. *Biol Psychiatry* 50(5): 313-322.

Patterson PH (2002) Maternal infection: window on neuroimmune interactions in fetal brain development and mental illness. *Curr Opin Neurobiol* 12(1): 115-118.

Paulsen JS, Heaton RK, Sadek JR, Perry W, Delis DC, Braff D, Kuck J, Zisook S, Jeste DV (1995) The nature of learning and memory impairments in schizophrenia. *J Int Neuropsychol Soc* 1(1): 88-99.

Pepperl DJ, Shah-Basu S, VanLeeuwen D, Granneman JG, MacKenzie RG (1998) Regulation of RGS mRNAs by cAMP in PC12 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 243(1): 52-55.

Petronis A (2006) Epigenetics and twins: three variations on the theme. *Trends Genet* 22(7): 347-350.

Pharoah F, Mari J, Rathbone J, Wong W (2006) Family intervention for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* (4): CD000088.

Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ (2002) Seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3(9): 639-650.

Pilowsky LS, Costa DC, Ell PJ, Verhoeff NP, Murray RM, Kerwin RW (1994) D2 dopamine receptor binding in the basal ganglia of antipsychotic-free schizophrenic patients. An 123I-IBZM single photon emission computerised tomography study. *Br J Psychiatry* 164: 16-26.

Prasad KM, Chowdari KV, Nimgaonkar VL, Talkowski ME, Lewis DA, Keshavan MS (2005) Genetic polymorphisms of the RGS4 and dorsolateral prefrontal cortex morphometry among first episode schizophrenia patients. *Mol Psychiatry* 10(2): 213-219.

Prasad KM, Keshavan MS (2008) Structural Cerebral Variations as Useful Endophenotypes in Schizophrenia: Do They Help Construct "Extended Endophenotypes"? *Schizophr Bull* 34(4): 774-790.

Prasad KM, Almasy L, Gur RC, Gur RE, Pogue-Geile M, Chowdari KV, Talkowski ME, Nimgaonkar VL. (2009) RGS4 Polymorphisms Associated With Variability of Cognitive Performance in a Family-Based Schizophrenia Sample. *Schizophr Bull* 2009 Mar 12. [Epub ahead of print]

Puri V, McQuillin A, Choudhury K, Datta S, Pimm J, Thirumalai S, Krasucki R, Lawrence J, Quested D, Bass N, Moorey H, Morgan J, Punukollu B, Kandasami G, Curtis D, Gurling H (2007) Fine mapping by genetic association implicates the chromosome 1q23.3 gene UHMK1, encoding a serine/threonine protein kinase, as a novel schizophrenia susceptibility gene. *Biol Psychiatry* 61(7): 873-879.

QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook. 2nd Edition. Quiagen (2005)

Raine A (1991) The SPQ: a scale for the assessment of schizotypal personality based on DSM-III-R criteria. *Schizophr Bull* 17(4): 555-564.

Rapoport JL, Addington AM, Frangou S, Psych MR (2005) The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry* 10: 434-449.

Reitan RM (1992) *Trail Making Test*. Tucson: Reitan Neuropsychology Laboratory.

Reith J, Benkelfat C, Sherwin A, Yasuhara Y, Kuwabara H, Andermann F, Bachneff S, Cumming P, Diksic M, Dyve SE, Etienne P, Evans AC, Lal S, Shevell M, Savard G, Wong DF, Chouinard G, Gjedde A (1994) Elevated dopa decarboxylase activity in living brain of patients with psychosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(24): 11651-11654.

Réthelyi JM, Bakker SC, Polgár P, Czobor P, Strengman E, Pásztor PI, Kahn RS, Bitter I (2010). Association Study of NRG1, DTNBP1, RGS4, G72/G30, and PIP5K2A With Schizophrenia and Symptom Severity in a Hungarian Sample. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B(3): 792-801.

Reuter B, Rakusan L, Kathmanna N (2005) Poor antisaccade performance in schizophrenia: an inhibition deficit? *Psychiatry Res* 135(1): 1-10.

Reynolds GP, Abdul-Monim Z, Neill JC, Zhang ZJ (2004) Calcium binding protein markers of GABA deficits in schizophrenia--postmortem studies and animal models. *Neurotox Res* 6(1): 57-61.

Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI Jr, Schuckit MA, Begleiter H (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19(4): 1018-1023.

Richter V, Guthke J (1996) *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)*. Göttingen: Hogrefe.

Rizig MA, McQuillin A, Puri V, Choudhury K, Datta S, Thirumalai S, Lawrence J, Quesed D, Pimm J, Bass N, Lamb G, Moorey H, Badacsonyi A, Kelly K, Morgan J, Punukollu B, Kandasami G, Curtis D, Gurling H (2006) Failure to confirm genetic association between schizophrenia and markers on chromosome 1q23.3 in the region of the gene encoding the regulator of G-protein signaling 4 protein (RGS4). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 141(3): 296-300.

Ross EM, Wilkie TM (2000) GTPase-activating proteins for heterotrimeric G proteins: regulators of G protein signaling (RGS) and RGS-like proteins. *Annu Rev Biochem* 69: 795-827.

Ross CA, Margolis RL, Reading SA, Pletnikov M, Coyle JT (2006) Neurobiology of Schizophrenia. *Neuron* 52: 139-153.

Rujescu D, Ingason A, Cichon S, Pietiläinen OP, Barnes MR, Touloupoulou T, Picchioni M, Vassos E, Ettinger U, Bramon E, Murray R, Ruggeri M, Tosato S, Bonetto C, Steinberg S, Sigurdsson E, Sigmundsson T, Petursson H, Gylfason A, Olason PI, Hardarsson G, Jonsdottir GA, Gustafsson O, Fossdal R, Giegling I, Möller HJ, Hartmann AM, Hoffmann P, Crombie C, Fraser G, Walker N, Lonnqvist J, Suvisaari J, Tuulio-Henriksson A, Djurovic S, Melle I, Andreassen OA, Hansen T, Werge T, Kiemeny LA, Franke B, Veltman J, Buizer-Voskamp JE; GROUP Investigators, Sabatti C, Ophoff RA, Rietschel M, Nöthen MM, Stefansson K, Peltonen L, St Clair D, Stefansson H, Collier DA (2009) Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 18(5): 988-996.

Rutter M, Moffitt TE, Caspi A (2006) Gene-environment interplay and psychopathology: multiple varieties but real effects. *J Child Psychol Psychiatry* 47(3-4): 226-261.

Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J (2005) A systematic review of the prevalence of schizophrenia *PLoS Med* 2(5): e141.

Saha S, Welham J, Chant D, McGrath J (2006) Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: evidence from a systematic review. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 41(5): 338-340.

Sanders AR, Duan J, Levinson DF, Shi J, He D, Hou C, Burrell GJ, Rice JP, Nertney DA, Olincy A, Rozic P, Vinogradov S, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Crowe RR, Cloninger CR, Martinez M, Gejman PV (2008) No Significant Association of 14 Candidate Genes With Schizophrenia in a Large European Ancestry Sample: Implications for Psychiatric Genetics. *Am J Psychiatry* 165(4): 497-506.

Saugstad JA, Marino MJ, Folk JA, Hepler JR, Conn PJ (1998) RGS4 inhibits signaling by group I metabotropic glutamate receptors. *J Neurosci* 18(3): 905-913.

Sawa A, Snyder SH (2002) Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science* 296(5568): 692-695.

Saykin AJ, Gur RC, Gur RE, Mozley PD, Mozley LH, Resnick SM, Kester DB, Stafiniak P (1991) Neuropsychological function in schizophrenia. Selective impairment in memory and learning. *Arch Gen Psychiatry* 48: 618-624.

Saykin AJ, Shtasel DL, Gur RE, Kester DB, Mozley LH, Stafiniak P, Gur RC (1994) Neuropsychological deficits in neuroleptic naive patients with first-episode schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 51: 124-131.

Schaid DJ, Rowland CM, Tines DE, Jacobson RM, Poland GA (2002) Score tests for association between traits and haplotypes when linkage phase is ambiguous. *Am J Hum Genet* 70(2): 425-434.

Scheschonka A, Dessauer CW, Sinnarajah S, Chidiac P, Shi CS, Kehrl JH (2000) RGS3 is a GTPase-activating protein for g(ialpha) and g(qalpha) and a potent inhibitor of signaling by GTPase-deficient forms of g(qalpha) and g(11alpha). *Mol Pharmacol* 58(4): 719-728.

Schmidt K-H, Metzler P (1992) *Wortschatztest. WST*. Weinheim: Beltz.

Schneider K (1957) Primäre und Sekundäre Symptome bei der Schizophrenie. *Fortschritte der Neurologie und Psychiatrie* 25: 487-491.

Schwab SG, Knapp M, Mondabon S, Hallmayer J, Borrmann-Hassenbach M, Albus M, Lerer B, Rietschel M, Trixler M, Maier W, Wildenauer DB (2003) Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in an additional sample of triad families. *Am J Hum Genet* 72(1): 185-190.

Schwendt M, Gold SJ, McGinty JF (2006) Acute amphetamine down-regulates RGS4 mRNA and protein expression in rat forebrain: distinct roles of D1 and D2 dopamine receptors. *J Neurochem* 96(6): 1606-1615.

Seeman P, Ulpian C, Bergeron C, Riederer P, Jellinger K, Gabriel E, Reynolds GP, Tourtellotte WW (1984) Bimodal distribution of dopamine receptor densities in brains of schizophrenics. *Science* 225: 728-731.

Seidman LJ, Faraone SV, Goldstein JM, Kremen WS, Horton NJ, Makris N, Toomey R, Kennedy D, Caviness VS, Tsuang MT (2002) Left hippocampal volume as a vulnerability indicator for schizophrenia: a magnetic resonance imaging morphometric study of nonpsychotic first-degree relatives. *Arch Gen Psychiatry* 59(9): 839-849.

Seidman LJ, Giuliano AJ, Smith CW, Stone WS, Glatt SJ, Meyer E, Faraone SV, Tsuang MT, Cornblatt B (2006) Neuropsychological functioning in adolescents and young adults at genetic risk for schizophrenia and affective psychoses: results from the Harvard and Hillside Adolescent High Risk Studies. *Schizophr Bull* 32(3): 507-524.

Shi J, Levinson DF, Duan J, Sanders AR, Zheng Y, Pe'er I, Dudbridge F, Holmans PA, Whitemore AS, Mowry BJ, Olincy A, Amin F, Cloninger CR, Silverman JM, Buccola NG, Byerley WF, Black DW, Crowe RR, Oksenberg JR, Mirel DB, Kendler KS, Freedman R, Gejman PV (2009). Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 460(7256): 753-757.

Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisanté-Shalom A, Lev-Lehman E, Weizman A, Reznik I, Spivak B, Grisaru N, Karp L, Schiffer R, Kotler M, Strous RD, Swartz-Vanetik M, Knobler HY, Shinar E, Beckmann JS, Yakir B, Risch N, Zak NB, Darvasi A (2002) A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71(6): 1296-1302.

Shifman S, Johannesson M, Bronstein M, Chen SX, Collier DA, Craddock NJ, Kendler KS, Li T, O'Donovan M, O'Neill FA, Owen MJ, Walsh D, Weinberger DR, Sun C, Flint J, Darvasi A (2008) Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet* 4(2):e28.

Sibley DR, Monsma FJ Jr, Shen Y (1993) Molecular neurobiology of dopaminergic receptors. *Int Rev Neurobiol* 35: 391-415.

Siderovski DP, Heximer SP, Forsdyke DR (1994) A human gene encoding a putative basic helix-loop-helix phosphoprotein whose mRNA increases rapidly in cycloheximide-treated blood mononuclear cells. *DNA Cell Biol* 13(2): 125-147.

Siegel C, Waldo M, Mizner G, Adler LE, Freedman R (1984) Deficits in sensory gating in schizophrenic patients and their relatives. Evidence obtained with auditory evoked responses. *Arch Gen Psychiatry* 41(6): 607-612.

Sierra DA, Gilbert DJ, Householder D, Grishin NV, Yu K, Ukidwe P, Barker SA, He W, Wensel TG, Otero G, Brown G, Copeland NG, Jenkins NA, Wilkie TM (2002) Evolution of the regulators of G-protein signaling multigene family in mouse and human. *Genomics* 79(2): 177-185.

Sitskoorn MM, Aleman A, Ebisch SJ, Appels MC, Kahn RS (2004) Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res* 71(2-3): 285-295.

Smyrnis N, Evdokimidis I, Stefanis NC, Avramopoulos D, Constantinidis TS, Stavropoulos A, Stefanis CN (2003) Antisaccade performance of 1,273 men: effects of schizotypy, anxiety, and depression. *J Abnorm Psychol* 112(3): 403-414.

Snitz BE, Macdonald AW 3rd, Carter CS (2006) Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative Endophenotypes. *Schizophr Bull* 32(1): 179-194.

So HC, Chen RY, Chen EY, Cheung EF, Li T, Sham PC (2008) An association study of RGS4 polymorphisms with clinical phenotypes of schizophrenia in a Chinese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147(1): 77-85.

Sobell JL, Richard C, Wirshing DA, Heston LL (2005) Failure to confirm association between RGS4 haplotypes and schizophrenia in Caucasians. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 139(1): 23-27.

Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ (1993) Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet* 52(3): 506-516.

Squire LR (1998) Memory systems. *C R Acad Sci III* 321(2-3): 153-156.

Staal WG, Hulshoff Pol HE, Schnack H, van der Schot AC, Kahn RS (1998) Partial volume decrease of the thalamus in relatives of patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 155(12): 1784-1786.

Stefanis NC, Trikalinos TA, Avramopoulos D, Smyrnis N, Evdokimidis I, Ntzani EE, Ioannidis JP, Stefanis CN (2007) Impact of schizophrenia candidate genes on schizotypy and cognitive endophenotypes at the population level. *Biol Psychiatry* 62(7): 784-792.

Stefanis NC, Trikalinos TA, Avramopoulos D, Smyrnis N, Evdokimidis I, Ntzani EE, Hatzimanolis A, Ioannidis JP, Stefanis CN (2008) Association of RGS4 variants with schizotypy and cognitive endophenotypes at the population level. *Behav Brain Funct* 4: 46.

Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V, Bjornsdottir S, Sigmundsson T, Ghosh S, Brynjolfsson J, Gunnarsdottir S, Ivarsson O, Chou TT, Hjaltason O, Birgisdottir B, Jonsson H, Gudnadottir VG, Gudmundsdottir E, Bjornsson A, Ingvarsson B, Ingason A, Sigfusson S, Hardardottir H, Harvey RP, Lai D, Zhou M, Brunner D, Mutel V, Gonzalo A, Lemke G, Sainz J, Johannesson G, Andresson T, Gudbjartsson D, Manolescu A, Frigge ML, Gurney ME, Kong A, Gulcher JR, Petursson H, Stefansson K (2002) Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71(4): 877-892.

Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, Pietiläinen OP, Ingason A, Steinberg S, Fossdal R, Sigurdsson E, Sigmundsson T, Buizer-Voskamp JE, Hansen T, Jakobsen KD, Muglia P, Francks C, Matthews PM, Gylfason A, Halldorsson BV, Gudbjartsson D, Thorgeirsson TE, Sigurdsson A, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Bjornsson A, Mattiasdottir S, Blondal T, Haraldsson M, Magnusdottir BB, Giegling I, Möller HJ, Hartmann A, Shianna KV, Ge D, Need AC, Crombie C, Fraser G, Walker N, Lonnqvist J, Suvisaari J, Tuulio-Henriksson A, Paunio T, Toupoulou T, Bramon E, Di Forti M, Murray R, Ruggeri M, Vassos E, Tosato S, Walshe M, Li T, Vasilescu C, Mühleisen TW, Wang AG, Ullum H, Djurovic S, Melle I, Olesen J, Kiemeny LA, Franke B; GROUP, Sabatti C, Freimer NB, Gulcher JR, Thorsteinsdottir U, Kong A, Andreassen OA, Ophoff RA, Georgi A, Rietschel M, Werge T, Petursson H, Goldstein DB, Nöthen MM, Peltonen L, Collier DA, St Clair D, Stefansson K (2008) Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 455(7210): 232-236.

Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, Werge T, Pietiläinen OP, Mors O, Mortensen PB, Sigurdsson E, Gustafsson O, Nyegaard M, Tuulio-Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Børglum AD, Hartmann A, Fink-Jensen A, Nordentoft M, Hougaard D, Norgaard-Pedersen B, Böttcher Y, Olesen J, Breuer R, Möller HJ, Giegling I, Rasmussen HB, Timm S, Mattheisen M, Bitter I, Réthelyi JM, Magnusdottir BB, Sigmundsson T, Olason P, Masson G, Gulcher JR, Haraldsson M, Fossdal R, Thorgeirsson TE, Thorsteinsdottir U, Ruggeri M, Tosato S, Franke B, Strengman E, Kiemeny LA, Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Sanjuan J, de Frutos R, Bramon E, Vassos E, Fraser G, Ettinger U, Picchioni M, Walker N, Toulopoulou T, Need AC, Ge D, Yoon JL, Shianna KV, Freimer NB, Cantor RM, Murray R, Kong A, Golimbet V, Carracedo A, Arango C, Costas J, Jönsson EG, Terenius L, Agartz I, Petursson H, Nöthen MM, Rietschel M, Matthews PM, Muglia P, Peltonen L, St Clair D, Goldstein DB, Stefansson K, Collier DA (2009) Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 460(7256): 744-747.

Stöber G, Saar K, Rüschendorf F, Meyer J, Nürnberg G, Jatzke S, Franzek E, Reis A, Lesch KP, Wienker TF, Beckmann H (2000) Splitting schizophrenia: periodic catatonia-susceptibility locus on chromosome 15q15. *Am J Hum Genet* 67(5): 1201-1207.

Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS (2007) Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol* 21(4): 440-452.

Straub RE, Weinberger DR (2006) Schizophrenia genes - famine to feast. *Biol Psychiatry* 60(2): 81-83.

Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, Wormley B, Sadek H, Kadambi B, Cesare AJ, Gibberman A, Wang X, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS (2002) Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71(2): 337-348.

Sturm W, Willmes K (1999) *Verbaler und Nonverbaler Lerntest (VLT/NVLT)*. Göttingen: Hogrefe.

Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC (2003) Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 60(12): 1187-1192.

Sullivan PF, Lin D, Tzeng JY, van den Oord E, Perkins D, Stroup TS, Wagner M, Lee S, Wright FA, Zou F, Liu W, Downing AM, Lieberman J, Close SL (2008) Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry* 13(6): 570-584.

Suvisaari J, Haukka J, Tanskanen A, Hovi T, Lönnqvist J (1999) Association between prenatal exposure to poliovirus infection and adult schizophrenia. *Am J Psychiatry* 156(7): 1100-1102.

Talkowski ME, Seltman H, Bassett AS, Brzustowicz LM, Chen X, Chowdari KV, Collier DA, Cordeiro Q, Corvin AP, Deshpande SN, Egan MF, Gill M, Kendler KS, Kirov G, Heston LL, Levitt P, Lewis DA, Li T, Mirnics K, Morris DW, Norton N, O'Donovan MC, Owen MJ, Richard C, Semwal P, Sobell JL, St Clair D, Straub RE, Thelma BK, Vallada H, Weinberger DR, Williams NM, Wood J, Zhang F, Devlin B, Nimgaonkar VL (2006) Evaluation of a susceptibility gene for schizophrenia: genotype based meta-analysis of RGS4 polymorphisms from thirteen independent samples. *Biol Psychiatry* 60(2): 152-162.

Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA (2008) Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res* 102(1-3): 1-18.

Terry AV Jr, Buccafusco JJ, Wilson C (2008) Cognitive dysfunction in neuropsychiatric disorders: Selected serotonin receptor subtypes as therapeutic targets. *Behav Brain Res* 195(1): 30-38.

Tesmer JJ, Berman DM, Gilman AG, Sprang SR (1997) Structure of RGS4 bound to AIF4--activated G(i alpha1): stabilization of the transition state for GTP hydrolysis. *Cell* 89(2): 251-261.

Tewes U (1994) *HAWIE-R: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991*. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: Huber.

Thaker GK (2007) Schizophrenia endophenotypes as treatment targets. *Expert Opin Ther Targets* 11(9): 1189-1206.

Thornton AE, Van Snellenberg JX, Sepehry AA, Honer W (2006) The impact of atypical antipsychotic medications on long-term memory dysfunction in schizophrenia spectrum disorder: a quantitative review. *J Psychopharmacol* 20(3): 335-346.

Thune JJ, Pakkenberg B (2000) Stereological studies of the schizophrenic brain. *Brain Res Brain Res Rev* 31(2-3): 200-204.

Tienari P, Wynne LC, Moring J, Läksy K, Nieminen P, Sorri A, Lahti I, Wahlberg KE, Naarala M, Kurki-Suonio K, Saarento O, Koistinen P, Tarvainen T, Hakko H, Miettunen J (2000) Finnish adoptive family study: sample selection and adoptee DSM-III-R diagnoses. *Acta Psychiatr Scand* 101(6): 433-443.

Torrey EF, Rawlings R, Waldman IN (1988) Schizophrenic births and viral diseases in two states. *Schizophr Res* 1(1): 73-77.

Torrey EF, Bartko JJ, Lun ZR, Yolken RH (2007) Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Bull* 33(3): 729-736.

Tosato S, Dazzan P, Collier D (2005) Association between the neuregulin 1 gene and schizophrenia: a systematic review. *Schizophr Bull* 31(3): 613-617.

Tsuang MT, Faraone SV (1995) Genetic heterogeneity of schizophrenia. *Seishin Shinkeigaku Zasshi* 97(7): 485-501.

Tsuang MT, Tohen M, Zahner G (1995) *Textbook in Psychiatry epidemiology*. New York: Wiley-Liss.

Tsuchiya KJ, Takagai S, Kawai M, Matsumoto H, Nakamura K, Minabe Y, Mori N, Takei N (2005) Advanced paternal age associated with an elevated risk for schizophrenia in offspring in a Japanese population. *Schizophr Res* 76(2-3): 337-342.

Tuominen HJ, Tiihonen J, Wahlbeck K (2005) Glutamatergic drugs for schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res* 72(2-3): 225-234.

Turetsky BI, Calkins ME, Light GA, Olincy A, Radant AD, Swerdlow NR (2007) Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures. *Schizophr Bull* 33(1): 69-94.

Tuulio-Henriksson A, Haukka J, Partonen T, Varilo T, Paunio T, Ekelund J, Cannon TD, Meyer JM, Lönngqvist J (2002) Heritability and number of quantitative trait loci of neurocognitive functions in families with schizophrenia. *Am J Hum Genet* 114(5): 483-490.

van Amelsvoort T, Henry J, Morris R, Owen M, Linszen D, Murphy K, Murphy D (2004) Cognitive deficits associated with schizophrenia in velo-cardio-facial syndrome. *Schizophr Res* 70(2-3): 223-232.

van Erp TG, Saleh PA, Huttunen M, Lönngqvist J, Kaprio J, Salonen O, Valanne L, Poutanen VP, Standertskjöld-Nordenstam CG, Cannon TD (2004) Hippocampal volumes in schizophrenic twins. *Arch Gen Psychiatry* 61(4): 346-353.

van Erp TG, Therman S, Pirkola T, Tuulio-Henriksson A, Glahn DC, Bachman P, Huttunen MO, Lönngqvist J, Hietanen M, Kaprio J, Koskenvuo M, Cannon TD (2008) Verbal recall and recognition in twins discordant for schizophrenia. *Psychiatry Res* 159(3): 271-280.

van Os J, Bak M, Hanssen M, Bijl RV, de Graaf R, Verdoux H (2002) Cannabis use and psychosis: a longitudinal population-based study. *Am J Epidemiol* 156(4): 319-327.

Verdoux H (2004) Perinatal risk factors for schizophrenia: how specific are they? *Curr Psychiatry Rep* 6(3): 162-167.

Vilella E, Costas J, Sanjuan J, Guitart M, De Diego Y, Carracedo A, Martorell L, Valero J, Labad A, De Frutos R, Nájera C, Moltó MD, Toirac I, Guillamat R, Brunet A, Vallès V, Pérez L, Leon M, de Fonseca FR, Phillips C, Torres M (2007) Association of schizophrenia with DTNBP1 but not with DAO, DAOA, NRG1 and RGS4 nor their genetic interaction. *J Psychiatr Res* 42(4): 278-288.

Waldman ID (2005) Statistical approaches to complex phenotypes: evaluating neuropsychological endophenotypes for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 57(11): 1347-1356.

Walsh T, McClellan JM, McCarthy SE, Addington AM, Pierce SB, Cooper GM, Nord AS, Kusenda M, Malhotra D, Bhandari A, Stray SM, Rippey CF, Roccanova P, Makarov V, Lakshmi B, Findling RL, Sikich L, Stromberg T, Merriman B, Gogtay N, Butler P, Eckstrand K, Noory L, Gochman P, Long R, Chen Z, Davis S, Baker C, Eichler EE, Meltzer PS, Nelson SF, Singleton AB, Lee MK, Rapoport JL, King MC, Sebat J (2008) Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* 320(5875): 539-543.

Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA. (2005) Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet* 6(2): 109-118.

Ward KE, Friedman L, Wise A, Schulz SC (1996) Meta-analysis of brain and cranial size in schizophrenia. *Schizophr Res* 22(3): 197-213.

Watson N, Linder ME, Druey KM, Kehrl JH, Blumer KJ (1996) RGS family members: GTPase-activating proteins for heterotrimeric G-protein alpha-subunits. *Nature* 383(6596): 172-175.

Watts VJ, Neve KA (2005) Sensitization of adenylate cyclase by Galpha i/o-coupled receptors. *Pharmacol Ther* 106(3): 405-421.

Wechsler D (1987) *Wechsler Memory Scale – Revised*. San Antonio: The Psychological Corporation.

Weickert TW, Goldberg TE, Gold JM, Bigelow LB, Egan MF, Weinberger DR (2000) Cognitive impairments in patients with schizophrenia displaying preserved and compromised intellect. *Arch Gen Psychiatry* 57(9): 907-913.

Weinberger DR (1999) Cell biology of the hippocampal formation in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 45(4): 395-402.

Weiss AP, Heckers S (2001) Neuroimaging of declarative memory in schizophrenia. *Scand J Psychol* 42(3): 239-250.

Weltgesundheitsorganisation: *Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F)*. Klinisch-diagnostische Leitlinien. 5., durchgesehene und ergänzte Auflage (2005). Bern: Huber.

Wilk CM, Gold JM, McMahon RP, Humber K, Iannone VN, Buchanan RW (2005) No, it is not possible to be schizophrenic yet neuropsychologically normal. *Neuropsychology* 19(6): 778-786.

Willars GB (2006) Mammalian RGS proteins: multifunctional regulators of cellular signalling. *Semin Cell Dev Biol* 17(3): 363-376.

Williams NM, Preece A, Spurlock G, Norton N, Williams HJ, McCreadie RG, Buckland P, Sharkey V, Chowdari KV, Zammit S, Nimgaonkar V, Kirov G, Owen MJ, O'Donovan MC (2004) Support for RGS4 as a susceptibility gene for schizophrenia. *Biol Psychiatry* 55(2): 192-195.

Wittchen HU, Saß H, Zaudig M (1996) *Diagnostisches und Statistisches Manual Psychiatrischer Störungen DSM-IV*. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe.

Wittchen HU, Zaudig M, Fydrich T (1997) *SKID Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I und II*. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe.

Wolf LE, Cornblatt BA, Roberts SA, Shapiro BM, Erlenmeyer-Kimling L (2002) Wisconsin Card Sorting deficits in the offspring of schizophrenics in the New York High-Risk Project. *Schizophr Res* 57(2-3): 173-182.

Wong AH, Gottesman II, Petronis A (2005) Phenotypic differences in genetically identical organisms: the epigenetic perspective. *Hum Mol Genet* 14 Spec No 1: R11-R18.

Wood LS, Pickering EH, Dechairo BM (2007) Significant support for DAO as a schizophrenia susceptibility locus: examination of five genes putatively associated with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 61(10): 1195-1199.

Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET (2000) Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157(1): 16-25.

Wyatt RJ, Alexander RC, Egan MF, Kirch DG (1988) Schizophrenia, just the facts. What do we know, how well do we know it? *Schizophr Res* 1(1): 3-18.

Xu B, Roos JL, Levy S, van Rensburg EJ, Gogos JA, Karayiorgou M (2008) Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia. *Nat Genet* 40(7): 880-885.

Yan Y, Chi PP, Bourne HR (1997) RGS4 inhibits Gq-mediated activation of mitogen-activated protein kinase and phosphoinositide synthesis. *J Biol Chem* 272(18): 11924-11927.

Zakzanis KK, Hansen KT (1998) Dopamine D2 densities and the schizophrenic brain. *Schizophr Res* 32: 201-206.

Zammit S, Allebeck P, Dalman C, Lundberg I, Hemmingson T, Owen MJ, Lewis G (2003) Paternal age and risk for schizophrenia. *Br J Psychiatry* 183: 405-408.

Zhang F, St Clair D, Liu X, Sun X, Sham PC, Crombie C, Ma X, Wang Q, Meng H, Deng W, Yates P, Hu X, Walker N, Murray RM, Collier DA, Li T (2005) Association analysis of the RGS4 gene in Han Chinese and Scottish populations with schizophrenia. *Genes Brain Behav* 4(7): 444-448.

Zipursky RB, Lambe EK, Kapur S, Mikulis DJ (1998) Cerebral gray matter volume deficits in first episode psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 55(6): 540-546.

Zobel A, Maier W (2004) Endophänotypen - ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Nervenarzt* 75: 205-214.

9. Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 2005 bis November 2007 in der Abteilung Molekulare und Klinische Neurobiologie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt dem Leiter der Arbeitsgruppe, Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Möglichkeit der Durchführung der vorliegenden Arbeit in seiner Abteilung.

Herrn Prof. Dr. med. Möller möchte ich meinen Dank für die Möglichkeit aussprechen, diese Promotionsarbeit an der von ihm geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität durchzuführen.

Überaus dankbar bin ich Frau Dipl. Psych. Ina Giegling für die kompetente Betreuung im praktischen Teil meiner Arbeit, die Hilfestellung bei der statischen Auswertung und das Korrekturlesen. Sie war und ist stets ein hilfsbereiter, geduldiger und kompetenter Ansprechpartner.

Ausdrücklich möchte ich mich an dieser Stelle bei Frau Dr. Annette Hartmann für die moralische Unterstützung, die wertvollen Ratschläge und das Korrekturlesen bedanken.

Ein herzlicher Dank geht auch an alle Mitarbeiter und Doktoranden der Arbeitsgruppe Molekulare und Klinische Neurobiologie.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen Patienten und Probanden, die an dieser Studie teilgenommen haben und diese Arbeit somit erst ermöglicht haben.

Bei meinem Mann und meinen Eltern bedanke ich mich für die uneingeschränkte Unterstützung, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

10. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Konnerth
Vorname: Heike
Geburtsdatum: 10.11.1976
Geburtsort: Blaj (Rumänien)
Anschrift: Erin-Singerl-Str. 9
81249 München

Schulbildung:

1982 – 1989 Gesamtschule Schönauf
1989 – 1990 Volksschule Fürth
1990 – 1994 Realschule Fürth
1994 – 1998 Gymnasium Nürnberg
Juni 1998 Erlangen der allgemeinen Hochschulreife

Studium:

1998 – 2003 Studium der Psychologie an der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
Juli 2003 Abschluss als Diplom-Psychologin

Berufliche Tätigkeiten:

11/2003 – 01/2004 Mitarbeit am Lehrstuhl für Psychologie I der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
02/2004 – 09/2005 Tätig als Diplom-Psychologin am Lombroso-Institut für Rechtspsychologie in Schwarzenberg

11/2005 – 11/2007	Promotion an der Ludwig-Maximilians-Universität München, Abteilung Molekulare und Klinische Neurobiologie, Leiter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu (praktischer Teil)
11/2007 – dato	Tätig als Diplom-Psychologin an der der Ludwig-Maximilians-Universität München, Abteilung Molekulare und Klinische Neurobiologie, Leiter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

München, April 2010